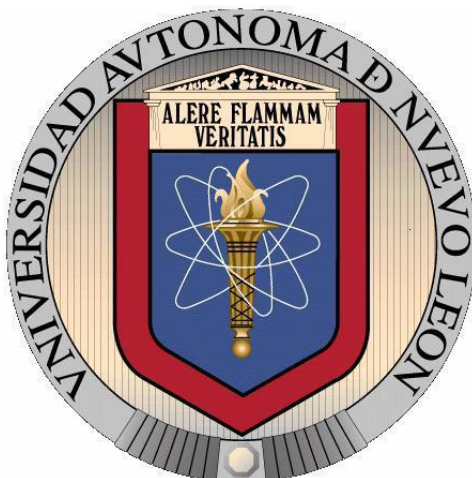


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA**



**“ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR  
MÉTODOS COMPUTACIONALES”**

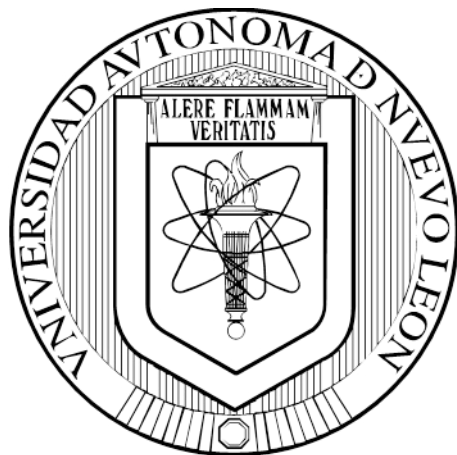
**POR**

**ELDA MADAI MELCHOR MARTÍNEZ**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA BIOMÉDICA**

**JUNIO, 2017**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA**



**“ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR  
MÉTODOS COMPUTACIONALES”**

**POR**

**M.C. ELDA MADAI MELCHOR MARTÍNEZ**

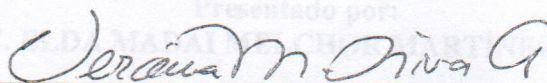
**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA BIOMÉDICA**

**JUNIO, 2017**

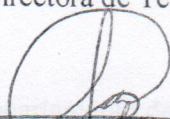


**ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA  
POR MÉTODOS COMPUTACIONALES**

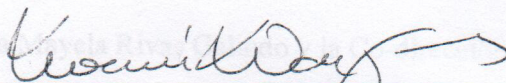
**Aprobación de la Tesis:**



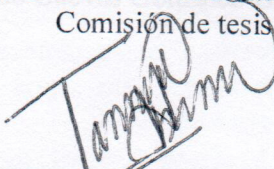
**Dra. en C. Verónica Mayela Rivas Galindo**  
Directora de Tesis



**Dr. en Q. Gabriel Eduardo Cuevas González-Bravo**  
Co-Director de Tesis



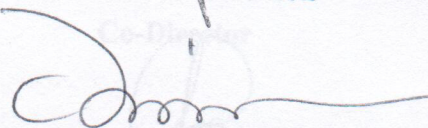
**Dra. en C. Noemí Waksman de Torres**  
Comisión de tesis



**Dra. en Q. Tannya Rocío Ibarra Rivera**  
Comisión de tesis



**Dr. en C. Ernesto Torres López**  
Comisión de tesis



**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
Subdirector de Estudios de Posgrado



# ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR

## MÉTODOS COMPUTACIONALES

Presentado por:

**M.C. ELDA MADAI MELCHOR MARTÍNEZ**

Este trabajo se realizó en el Departamento de Química Analítica de la

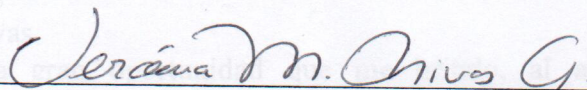
Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el

Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la Dirección

de la Dra. en C. Verónica Mayela Rivas Galindo y la Co-dirección del Dr. en Q. Gabriel

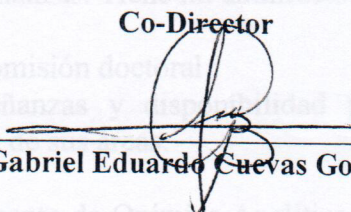
Eduardo Cuevas González-Bravo.

**Directora**



**Dr. en C. Verónica Mayela Rivas Galindo**

**Co-Director**



**Dr. en Q. Gabriel Eduardo Cuevas González- Bravo**



## AGRADECIMIENTOS

Madre

Gracias por apoyarme siempre en todas mis decisiones, por dejarme ir cuando te dije que me iba de casa a estudiar lejos y desde entonces eres mis alas siempre para volar, sin ti no hubiera llegado aquí, gracias por todas tus oraciones, si pudiera hacerte un monumento lo haría, gracias por toda tu paciencia, porque siempre estás ahí cuando las cosas están mal y me das fortaleza, porque siempre estás ahí cuando todo va bien y compartes mis alegrías, te amo tanto. ♥

Padre

Agradezco tu apoyo incondicional de toda la vida, nunca me has abandonado, espero que te sientas muy orgulloso de mí, porque sin ti este logro no hubiera sido posible. ♥

Rosario Guerrero

Gracias por tu eterna comprensión, por entender esta vida que elegí, por creer tanto en mí y apoyarme para nunca rendirme. Tú eres parte de mis logros siempre. ♥

Hermanos

Les agradezco la calidez de que me comparten cada que podemos estar todos juntos, sé que estamos lejos, pero que siempre están ahí en las buenas y en las malas.

Dra. Verónica Rivas

Si hay alguien a quien debo agradecer mucho, es a usted, Gracias por creer en mí desde el primer día, por la confianza todo este tiempo, por su eterna disponibilidad, por su gran comprensión respecto a mis manías, por enseñarme tanto. Si en la otra vida hiciera un doctorado la erigiría a usted como guía de nuevo. Es la mejor maestra. No tengo palabras para agradecer sus consejos, la luz cuando más la necesite, usted es una piedra angular en mi crecimiento profesional y personal. Tiene mi admiración y cariño por siempre. ♥

Dr. Gabriel Cuevas

Le agradezco la gran oportunidad que me brindo, al abrirme otro mundo del conocimiento, la química computacional. Por permitirme incorporarme en su grupo de estudiantes en el Instituto de Química y tratarme como si estuviera en casa. Por su valiosa colaboración y grandes aportaciones a este proyecto. Gracias por su amabilidad, disponibilidad y las enseñanzas. Tiene mi admiración y respeto.

A los miembros de mi comisión doctoral

Por sus consejos, enseñanzas y disponibilidad para mejorar este trabajo con las aportaciones en cada una de sus áreas.

Al personal del departamento de Química Analítica, especialmente a mis profesores por el apoyo desde el inicio al término de mi formación doctoral.

A CONACYT por la beca de manutención para la realización de los estudios de doctorado



Dra Ana Rivas

Por sus consejos, por seguir pendiente de mi formación profesional y alentarme siempre como una gran tutora. Tiene mi cariño y admiración.

Ivonne Carrera

Gracias la disposición que tienes para mantener el laboratorio de extracción en optimas condiciones, porque sin tu organización no podríamos trabajar. Tú eres parte importante de los logros experimentales de todos.

A los estudiantes del Instituto de Química que fueron hospitalarios y amables, gracias por sus atenciones, por sus consejos, por su ayuda y compartir su conocimiento conmigo. Muchos de ustedes los considero grandes amigos. Experimentales: Elí Reyes, Fabián Cuetara, Tania Rojo, Alejandro Aguilera. Teóricos: Marco Tlatelpa, Mariano Castellanos, Víctor Duarte, Víctor Mora, Fernando Holguín, Andrés Marmolejo, Erick Sánchez. Los llevaré por siempre en mi corazón.

Al riolo team, Juan Támez y Yolanda Estrada, ustedes son mis hermanitos, yo estoy agradecida de haber trabajado con ustedes y formar el mejor equipo. Compartimos riolo, conocimiento, estrés, horas de laboratorio, de cortar planta y todas esas cosas bonitas que pasamos juntos. Les agradezco su ayuda incondicional.

A Cecilia Delgado, Omar Portillo y Marsela Garza que la vida los puso en mi camino para vivir estos placeres del posgrado, gracias por compartir conmigo lágrimas, estrés, seminarios, tesis, laboratorio, tacos, elotes, papitas del 7. Gracias por su comprensión y compañía, con ustedes cerca todo fue más fácil.

Ana Villarreal

Hermana de la vida paralela, agradezco tu apoyo incondicional en estos 4 años y siempre, gracias por ser mi roomie, mi consejera la más comprensiva, por la compañía y la guía, por alimentarme con picadillito cuando se podía. CDMX fue más fácil y divertida contigo a mi lado. Te quiero pug.♥

Daniel Arellanos

Barney debo agradecerte en palabras muchas cosas, pondré solo algunas, gracias por ser mi gran maestro de laboratorio de células, por explicarme terapia génica, por compartirme tu conocimiento, por ir conmigo al banco, por subir siempre que podías a escuchar mis frustraciones, por siempre cuidarme. ♥

Daniel Dagnino

Gracias por apoyarme en una etapa que parecía interminable, la titulación. Por la compañía en las horas de escritura y en la transición.

A las personas que de alguna manera me apoyaron directa o indirectamente para terminar este proyecto.

A CONACYT por la beca de manutención para la realización de los estudios de doctorado.



## RESUMEN

M.C. Elda Madal Melchor Martínez

Fecha de Graduación: Enero, 2017

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Medicina

### Título del Estudio: ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR MÉTODOS COMPUTACIONALES

Número de páginas: 166

Calificado para el grado de Doctor en Ciencias con especialidad en Química Farmacéutica

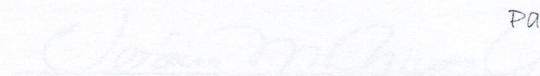
Área de Estudio: Química Analítica

**Propósito y Método del Estudio:** El estudio del origen y desarrollo de los productos naturales está limitado desde el punto de vista experimental, aunque los intentos de realizar propuestas solo son apoyados en las estimaciones moleculares de reactivos y productos. Actualmente los estudios de simulación química ayudan a fortalecer dichas propuestas. El compuesto riolozatriona fue aislado en 1980 a partir del extracto de hierba de petróleo de la raíz de *Jatropha dioica*, y hoy en día hasta la fecha ser el único diterpeno con esqueleto de tipo riolozano reportado en la literatura. Recientemente, se demostró que posee actividad biológica moderada inhibiendo la replicación in vitro de los virus del herpes simplex tipo I y II. Por lo anterior, es significativamente importante estudiar su biogénesis. Se planteó una posible ruta biogénica de riolozatriona que incluye a los precursores diterpenos de tipo ciclojartano, jartoleno, jartano y premariteno, la cual fue estudiada por métodos computacionales y comprobada experimentalmente con el aislamiento de los precursores a partir de los extractos de la planta utilizando diversas técnicas cromatográficas. Se evaluó además la actividad inhibidora de los precursores aislados mediante el ensayo de reducción de placas.

**Contribuciones y Conclusiones:** La ruta biogénica planteada de riolozatriona fue comprobada computacional y experimentalmente. Se aislaron 3 compuestos que ya han sido reportados en la literatura y se reportan 3 compuestos nuevos que se caracterizaron estructuralmente por técnicas espectroscópicas (mezcla de dos congenitos C-2 epimeros de 10-jartoleno y 6-epi-riolozatriona). Se concluyó que uno de los epimeros de 10-jartoleno (2A) es el precursor inicial de la biogénesis de riolozatriona y la 6-epi-riolozatriona queda en **Las plantas**

Prodigio de la naturaleza base de materia prima para elaborar medicina  
Que nos brindan el alimento, salud, vigor, fortaleza.  
Que nos conservan el clima  
Y el aire que se respira  
Sembremos una semilla  
Vivamos en armonía  
Esta útil maravilla compartamos  
Que nos otorga el señor  
Para todos los humanos.

FIRMA DEL DIRECTOR DEL TESIS



Dr. en C. Verónica Mayela Rivas Galindo

Víctor Melchor



## RESUMEN

M.C. Elda Madai Melchor Martínez.

Fecha de Graduación: Enero, 2017

Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Medicina

### Título del Estudio: ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR MÉTODOS COMPUTACIONALES

Número de páginas: 166

Candidato para el grado de Doctor en Ciencias con  
especialidad en Química Biomédica

Área de Estudio: Química Analítica

**Propósito y Método del Estudio:** El estudio del origen biogenético de los productos naturales está limitado desde el punto de vista experimental, cuando los mecanismos de reacción propuestos solo son soportados en las estructuras moleculares de reactivos y productos. Actualmente los estudios de simulación química ayudan a fortalecer dichas propuestas. El diterpeno riolozatriona fue aislado en 1980 a partir del extracto de éter de petróleo de la raíz de *Jatropha dioica*, y representó hasta la fecha ser el único diterpeno con esqueleto de tipo riolozano reportado en la literatura. Recientemente, se demostró que posee actividad biológica moderada inhibiendo la replicación *in vitro* de los virus del herpes simplex tipo I y II. Por lo anterior, es significativamente importante establecer su biogénesis. Se planteó una posible ruta biogenética de riolozatriona que incluye como precursores diterpenos de tipo ciclojatrofano, jatrofano, latirano y premirsinano, la cual fue estudiada por métodos computacionales y comprobada experimentalmente con el aislamiento de los precursores a partir de los extractos de la planta utilizando diversas técnicas cromatográficas. Se evaluó además la actividad antiherpética de los precursores aislados mediante el ensayo de reducción de placas.

**Contribuciones y Conclusiones:** La ruta biogenética planteada de riolozatriona fue comprobada computacional y experimentalmente. Se aislaron 3 compuestos que ya han sido reportados en la literatura y se reportan 3 compuestos nuevos que se caracterizaron estructuralmente por técnicas espectroscópicas (mezcla de dos compuestos C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona y 6-*epi*-riolozatriona). Se concluyó que uno de los epímeros de *iso*-jatrofatriona (2*R*) es el precursor inicial de la biogénesis de riolozatriona y la 6-*epi*-riolozatriona queda en un paso previo de la biogénesis computacional planteada. Además, con la existencia de la 6-*epi*-riolozatriona con esqueleto del tipo riolozano queda por comprobar si éste es el verdadero producto natural y riolozatriona es un artefacto. Con los resultados de los ensayos de actividad antiherpética de los precursores de riolozatriona, se determinó que la configuración y la conformación influyen de manera importante en la actividad de los compuestos con esqueleto tipo riolozano, mientras que en los diterpenos de tipo ciclojatrofano la presencia de un epóxido en el anillo de ciclopentano disminuye la actividad.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS

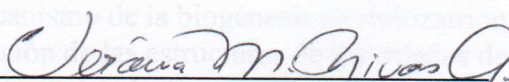
  
Dr. en C. Verónica Mayela Rivas Galindo



TABLA DE CONTENIDO	
Capítulo	Página
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1 Metabolismo primario y secundario	1
1.2 Productos naturales	3
1.3 Terpenos	4
1.3.1 Biosíntesis de diterpenos	5
1.3.2 Función de los terpenos en las plantas	7
1.3.3 Terpenos de importancia médica	8
1.4 Diterpenos del género <i>Jatropha</i>	10
1.5 Biogénesis de diterpenos	12
1.6 Estudio de las rutas biosintéticas	13
1.7 Antecedentes	16
1.8 Justificación	21
1.9 Hipótesis	22
2.0 Objetivos.	22
2.1 Objetivo General	22
2.2 Objetivos Específicos	22
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	23
2.1 Material, Equipos y Reactivos.	23
2.1.1 Material biológico.	23
2.1.2 Material de laboratorio.	24
2.1.3 Equipos.	27
2.1.4 Reactivos.	29
2.1.5 Disolventes.	30
2.2 Métodos.	31
2.2.1 Estudio computacional de la biogénesis de riolozatriona	31
2.2.1.1 Planteamiento del mecanismo de reacción de la biogénesis de riolozatriona.	31
2.2.1.2 Análisis conformacional de intermediarios de reacción en el mecanismo de la biogénesis de riolozatriona	31
2.2.1.3 Determinación de las estructuras de los estados de transición	32
2.2.1.4 Construcción de los diagramas de energía para el mecanismo propuesto.	32



2.2.2 Aislamiento de los precursores de riolozatriona	32
2.2.2.1 Colecta de la planta	32
2.2.2.2 Obtención de extractos	33
2.2.2.3 Separación cromatográfica	33
2.2.2.4 Análisis de la separación cromatográfica	34
2.2.2.4.1 Análisis de la separación cromatográfica por CCF	34
2.2.2.4.2 Análisis de la separación cromatográfica por CLAR	35
2.2.2.5 Caracterización estructural de los compuestos obtenidos	35
2.2.2.5.1 Determinación del punto de fusión	35
2.2.2.5.2 Espectroscopia ultravioleta visible	35
2.2.2.5.3 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	36
2.2.2.5.4 Espectrometría de masas	36
2.2.2.6 Determinación de la configuración absoluta de los compuestos	37
2.2.2.6.1 Dicroísmo circular vibracional	37
2.2.2.6.2 Difracción de rayos X	38
2.2.3 Determinación de la actividad biológica <i>in vitro</i> de los precursores de riolozatriona	39
2.2.3.1 Determinación de la actividad citotóxica (CC <sub>50</sub> )	39
2.2.3.2 Determinación de la actividad anti-herpética (CI <sub>50</sub> )	39
2.2.3.3 Determinación del índice de selectividad	40
2.2.4 Comprobación de isomerización de 6- <i>epi</i> -riolozatriona a riolozatriona	40
<b>3. RESULTADOS</b>	41
3.1 Estudio computacional de la biogénesis de riolozatriona	41
3.1.1 Planteamiento del mecanismo de reacción de la biogénesis de riolozatriona	41
3.1.2 Análisis conformacional de intermediarios de reacción	43
3.1.3 Determinación de las estructuras de los estados de transición	45
3.1.4 Construcción de los diagramas de energía para el mecanismo II	46
3.2 Aislamiento de los precursores de riolozatriona	49
3.2.1 Separación cromatográfica	49
3.2.2 Análisis de la separación cromatográfica	50
3.2.2.1 Análisis de la separación cromatográfica por CCF	50
3.2.2.2 Análisis de la separación cromatográfica por CLAR	50
3.2.3 Caracterización estructural	53
3.2.3.1 Determinación del Punto de Fusión	53
3.2.3.2 Espectroscopia ultravioleta visible	54
3.2.3.3 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	57
3.2.3.4 Espectrometría de masas	61
3.2.4 Determinación de la configuración absoluta de los compuestos	65
3.2.4.1 Dicroísmo circular vibracional	65
3.2.4.2 Difracción de rayos X	70
3.3 Determinación de la actividad biológica <i>in vitro</i> de los precursores de riolozatriona	73
3.4 Comprobación de isomerización de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	74



a riolozatriona	139
8.5.3 COSY- 2D RMN	140
8.5.5 HMBC 2D-RMN	142
<b>4. DISCUSIÓN</b>	<b>75</b>
4.1 Estudio computacional de la biogénesis de riolozatriona	75
4.2 Aislamiento de precursores de riolozatriona	85
4.3 Determinación de la configuración absoluta de los compuestos	91
4.4 Determinación de la actividad biológica <i>in vitro</i> de los precursores de riolozatriona	94
4.5 Hipótesis de la ruta biosintética de riolozatriona	100
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>103</b>
<b>6. PERSPECTIVAS</b>	<b>105</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>107</b>
<b>8. APÉNDICE</b>	<b>113</b>
8.1 Espectros de resonancia magnética nuclear de 6- <i>epi</i> -riolozatriona en CDCl <sub>3</sub> a 400 MHz	113
8.1.1 <sup>1</sup> H- RMN	114
8.1.2 <sup>13</sup> C-RMN	115
8.1.3 COSY- 2D RMN	116
8.1.4 DEPT-2D RMN	117
8.1.5 HMBC 2D-RMN	118
8.1.6 HSQC 2D-RMN	119
8.1.7 NOESY 2D-RMN	120
8.2 Espectros de resonancia magnética nuclear de 6- <i>epi</i> -riolozatriona en metanol <i>d</i> -4 a 400 MHz	121
8.2.1 <sup>1</sup> H- RMN	122
8.2.2 <sup>13</sup> C-RMN	123
8.2.3 HMBC 2D-RMN	124
8.2.4 HSQC 2D-RMN	125
8.2.5 NOESY 2D-RMN	126
8.3 Espectros de resonancia magnética nuclear de riolozatriona en metanol <i>d</i> -4 a 400 MHz	127
8.3.1 <sup>1</sup> H- RMN	128
8.3.2 <sup>13</sup> C-RMN	129
8.3.3 COSY 2D-RMN	130
8.3.4 HSQC 2D-RMN	131
8.4 Comparación de espectros <sup>1</sup> H de resonancia magnética nuclear de 6- <i>epi</i> -riolozatriona y riolozatriona en metanol <i>d</i> -4 a 400 MHz procesados con el software NUTS	132
8.5 Espectros de resonancia magnética nuclear de la mezcla de C-2 epímeros de <i>iso</i> -jatrofatriona	137
8.5.1 <sup>1</sup> H- RMN	138



8.5.2 $^{13}\text{C}$ -RMN	139
8.5.3 COSY- 2D RMN	140
8.5.4 DEPT-2D RMN	141
8.5.5 HMBC 2D-RMN	142
8.5.6 HMQC 2D-RMN	143
8.5.7 NOESY 2D-RMN	144
8.6 Coordenadas X, Y,Z de conformeros de calculados con un nivel de teoría M062x/ 6-311+G(d,p)	145
8.6.1 Conformeros de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona	146
8.6.2 Conformeros de riolozatriona	151
8.6.3 Conformeros de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	155
8.7 Coordenadas X,Y,Z de los estados de transiciones del mecanismo de de transformación de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona a riolozatriona calculados con PM6	163
III Análisis conformacional de riolozatriona	44
IV Análisis conformacional de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	44
V Energía de mínimos y estados de transición de mecanismo de transposición de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona a riolozatriona	45
VI Porcentajes de recuperación de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	49
VII Factor de retención calculado de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	50
VIII Puntos de fusión de los diterpenoides de <i>Jatropha dioica</i>	54
IX Máximos de absorción en Espectroscopia ultravioleta visible de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	54
X Datos de RMN de jatrofatriona y epijatrofatriona en $\text{CDCl}_3$ a 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )	57
XI Datos de RMN de riolozatriona y 6- <i>epi</i> -riolozatriona en $\text{CDCl}_3$ a 750 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 187.5 MHz ( $^{13}\text{C}$ )	58
XII Datos de RMN de riolozatriona y 6- <i>epi</i> -riolozatriona en Metanol- $d_4$ a 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )	59
XIII Datos de RMN de 2 <i>R</i> y 2 <i>S</i> <i>iso</i> -jatrofatriona en $\text{CDCl}_3$ a 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )	60
XIV Relación masa carga de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	61



XV	Comparación de los espectros de DCV IR de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	70
XVI	Actividad citotóxica y anti-herpética de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	74

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Análisis conformacional de jatrofatriona	43
II	Análisis conformacional de 2 <i>R</i> iso-jatrofatriona	43
III	Análisis conformacional de riolozatriona	44
IV	Análisis conformacional de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	44
V	Energía de mínimos y estados de transición de mecanismo de transposición de 2 <i>R</i> iso-jatrofatriona a riolozatriona	45
VI	Porcentajes de recuperación de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	49
VII	Factor de retención calculado de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	50
VIII	Puntos de fusión de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	54
IX	Máximos de absorción en Espectroscopia Ultravioleta visible de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	54
X	Datos de RMN de jatrofatriona y citlalitriona en CDCl <sub>3</sub> a 400 MHz ( <sup>1</sup> H) y 100 MHz ( <sup>13</sup> C)	57
XI	Datos de RMN de riolozatriona y 6- <i>epi</i> -riolozatriona en CDCl <sub>3</sub> a 750 MHz ( <sup>1</sup> H) y 187.5 MHz ( <sup>13</sup> C)	58
XII	Datos de RMN de riolozatriona y 6- <i>epi</i> -riolozatriona en Metanol- <i>d</i> <sub>4</sub> a 400 MHz ( <sup>1</sup> H) y 100 MHz ( <sup>13</sup> C)	59
XIII	Datos de RMN de 2 <i>R</i> y 2 <i>S</i> iso-jatrofatriona en CDCl <sub>3</sub> a 400 MHz ( <sup>1</sup> H) y 100 MHz ( <sup>13</sup> C)	60
XIV	Relación masa carga de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	61



XV	Comparación de los espectros de DCV/IR de los diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	70
XVI	Actividad citotóxica y anti-herpética de diterpenoides obtenidos de <i>Jatropha dioica</i>	74

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura de isopreno.	4
2. Biosíntesis de terpenos.	6
3. Estructura de paclitaxel	8
4. Estructura de artemisinina.	9
5. Esqueletos de diterpenos de plantas del género <i>Jatropha</i>	11
6. Biogénesis de pimarano.	13
7. Estructura y nomenclatura de riolozatriona	18
8. Esqueletos de diterpeno derivados de <i>Jatropha</i>	19
9. Hipótesis biogenética de la biosíntesis de jatrofetriona.	20
10. Diterpenos aislados de <i>Jatropha dioica</i>	20
11. Mecanismo I propuesto para la transformación de jatrofetriona a riolozatriona	42
12. Mecanismo II propuesto para la transformación de 2 <i>H</i> -jatrofetriona a riolozatriona	42
13. Diagrama de energía para la formación del ciclopropano	46
14. Diagrama de energía para la reacción de Michael transamilar	47
15. Diagrama de energía para la reacción de retro-aldol	47
16. Diagrama de energía para la reacción de condensación aldólica	48
17. Diagrama de energía para la reacción de isomerización de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	48
18. Cromatograma del extracto de diclorometano de la raíz de	51



19. Cromatograma de jatrofatriona obtenido por CLAR.	31
20. Cromatograma de 6- <i>epi</i> -riolozatriona obtenido por CLAR	32
21. Cromatograma de riolozatriona	33

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura de isopreno.	4
2. Biosíntesis de terpenos.	6
3. Estructura de paclitaxel	8
4. Estructura de artemisinina.	9
5. Esqueletos de diterpenos de plantas del género <i>Jatropha</i> .	11
6. Biogénesis de pimarano.	13
7. Estructura y numeración de riolozatriona.	18
8. Esqueletos de diterpeno derivados de casbeno.	19
9. Hipótesis biogenética de la biosíntesis de jatrofatriona.	20
10. Diterpenos aislados de <i>Jatropha dioica</i>	20
11. Mecanismo I propuesto para la transformación de jatrofatriona a riolozatriona	42
12. Mecanismo II propuesto para la transformación de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona a riolozatriona	42
13. Diagrama de energía para la formación del ciclopropano	46
14. Diagrama de energía para la reacción de Michael transanular	47
15. Diagrama de energía para la reacción de retro-aldol	47
16. Diagrama de energía para la reacción de condensación aldólica	48
17. Diagrama de energía para la reacción de isomerización de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	48
18. Cromatograma del extracto de diclorometano de la raíz de	51



19. Cromatograma de citlaltiriona obtenido por CLAR.	51
20. Cromatograma de 6- <i>epi</i> -riolozatriona obtenido por CLAR	52
21. Cromatograma de riolozatriona obtenido por CLAR	52
22. Cromatograma de la mezcla de C-2 epímeros <i>iso</i> -jatrofatriona obtenido por CLAR	52
23. Cromatograma de jatrofatriona obtenido por CLAR	53
24. Espectro de absorción ultravioleta-visible de jatrofatriona en metanol.	55
25. Espectro de absorción ultravioleta-visible de citlaltiriona en metanol.	55
26. Espectro de absorción ultravioleta-visible de riolozatriona en metanol.	55
27. Espectro de absorción ultravioleta-visible de 6- <i>epi</i> -riolozatriona en metanol.	56
28. Espectro de absorción ultravioleta-visible de la mezcla de <i>iso</i> -jatrofatriona y su epímero C-2 en metanol.	56
29. Espectro de masas de baja resolución de jatrofatriona	62
30. Espectro de masas de baja resolución de citlaltiriona	62
31. Espectro de masas de baja resolución de riolozatriona	63
32. Espectro de masas de baja resolución de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	63
33. Espectro de masas de alta resolución de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	64
34. Espectro de masas de baja resolución de la mezcla de C-2 epímeros de <i>iso</i> -jatrofatriona	64
35. Espectro de DCV/IR experimental y calculado para jatrofatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP	66
36. Espectro de DCV/IR experimental y calculado para citlaltiriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP	67
37. Espectro de DCV/IR experimental y calculado para riolozatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP	68
38. Espectro de DCV/IR experimental y calculado para 6- <i>epi</i> -riolozatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP	69



39. Figura ORTEP de citlalitriona	71
40. Figura ORTEP de riolozatriona.	72
41. Figura ORTEP de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	73
42. Interconversión de 6- <i>epi</i> -riolozatriona a riolozatriona	74
43. Estructura y numeración de jatrofatriona	76
44. Estructura y numeración de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona	77
45. Estado de transición de la reacción de formación de ciclopropano	78
46. Estado de transición de la reacción de Michael transanular	79
47. Estado de transición de la reacción de retro-aldol	80
48. Estado de transición de la reacción de condensación aldólica	81
49. Estado de transición de la formación de enol en 6- <i>epi</i> -riolozatriona	82
50. Estado de transición de la protonación del enol en 6- <i>epi</i> -riolozatriona	82
51. Isomerización de 6- <i>epi</i> -riolozatriona a riolozatriona	84
52. Estructura y numeración de citlalitriona	86
53. Correlaciones NOE de 2 <i>R</i> <i>iso</i> -jatrofatriona	88
54. Estructura y numeración de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	89
55. Correlaciones NOE de 6- <i>epi</i> -riolozatriona	90
56. Estructura y numeración de jatrofona	95
57. Vista 3D de riolozatriona y 6- <i>epi</i> -riolozatriona	98
58. Diterpenoides derivados del casbeno: inclusión de esqueletos de ciclojatrofano y riolozano	102



cm	Centímetros
cm <sup>-1</sup>	Centímetros recíprocos
CMT	
CNDO	Complete Neglect of Differential Overlap
C18	Octadecilsilano
%	Por ciento
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
®	Marca registrada
COSY	Correlation Spectroscopy
λ	Longitud de onda
DMAPP	Diisopropil maleato
Al TLC	Aluminium Thin Layer Chromatography
DMSO	Dimetil sulfoxido
Å	Angstrom
DCV	Dicroísmo Circular Vibracional
ACV	Aciclovir
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
AM1	Austin Model 1
DFT	Density Functional Theory
AOEt	Acetato de Etilo
DMEM	Medio de cultivo de células
BaF <sub>2</sub>	Fluoruro de Bario
EC <sub>50</sub>	Concentración Eficaz 50
B3LPYP	Becke Three Parameter Hybrid Functionals
FBS	Suero bovino fetal
°C	Grado centígrado
FD	Factor de difusión
CC	Control de crecimiento celular
IPP	Pirofosfato de potasio
CC <sub>50</sub>	Concentración Citotóxica Media
g	Gramos
CCF	Cromatografía en Capa Fina
g/L	Gramos por Litro
CCSD	Coupled Cluster Theory
GPP	Proteína G
CI <sub>50</sub>	Concentración Inhibitoria Media
GGPP	Pirofosfato de geranilgeranilo
<sup>13</sup> C-RMN	Resonancia Magnética Nuclear del carbono
h	Horas
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
HF	Hexafluoruro de azufre
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute



HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
cm	Centímetros
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
cm <sup>-1</sup>	Centímetros recíprocos
1H RMN	Resonancia Magnética Nuclear del protón
CMI	Concentración mínima inhibitoria
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
CNDO	Complete Neglect of Differential Overlap
Hz	Hertz
C18	Octadecilsilano
IG	Immunoglobulina G
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CNDO	Intermediate Neglect of Differential Overlap
COSY	Correlation spectroscopy
IPP	Isopropil piridato
DMAPP	Pirofosfato de dimetilalilo
DMSO	Dimetil Sulfóxido
IR	Infrarrojo
DCV	Dicroísmo Circular Vibracional
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DFT	Density Functional Theory
DMEM	Medio Eagles Modificación De Dulbecco
EC <sub>50</sub>	Concentración efectiva media
FBS	Suero bovino fetal
FD	Factor de dilución
FPP	Pirofosfato de farnesilo
mm	milímetros
g	Gramos
mg/mL	Miligramos por mililitro
g/L	Gramos por Litro
ML	mililitro
GPP	Pirofosfato de geranilo
MTT	Drumuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazol-4-carboxilato
GGPP	Pirofosfato de geranilgeranilo
h	Horas
HF	Hartree-Fock



<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
<b>HMQC</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<b><sup>1</sup>H-RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear del protón
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IgG</b>	Inmunoglobulina G
<b>INDO</b>	Intermediate Neglect of Differential Overlap
<b>IPP</b>	Pirofosfato de isopentenilo
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>IRC</b>	Coordenada de reacción intrínseca
<b>IS</b>	Índice de selectividad
<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamiento
<b>K</b>	Kelvin
<b>L</b>	Litro
<b>min</b>	Minuto
<b>mg</b>	Miligramo
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mg/mL</b>	Miligramos por mililitro
<b>mHz</b>	Megahertz
<b>MTT</b>	Bromuro de 3-(4,5-Dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio
<b>μg</b>	Microgramo
<b>μg/mL</b>	Microgramo por mililitro



<b>μL</b>	Micro litro
<b>μm</b>	Micrómetro
<b>MPn</b>	Møller–Plesset perturbation theory
<b>NA</b>	No activo
<b>ND</b>	No detectable
<b>NEAA</b>	Aminoácidos no esenciales
<b>N.L.</b>	Nuevo León
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>NOESY</b>	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PBS</b>	Buffer de fosfato salino
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PM6</b>	Parametric Method 6
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PVDF</b>	Polifluoruro de vinilideno
<b>PW91</b>	Perdew and Wang's functional
<b>Rf</b>	Factor de Retardo
<b>RP-18</b>	Fase Inversa de Octadecilsilano
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>SDS</b>	Dodecilsulfato de sodio
<b>tk</b>	Timidina quinasa
<b>TS</b>	Estado de transición
<b>TLC RP-18</b>	Thin Layer Chromatography Reverse Phase-C18



<b>UANL</b>	Universidad Autónoma de Nuevo León
<b>UFP</b>	Unidades Formadoras de Placas
<b>UHPLC-MS</b>	Ultra-High Pressure Liquid Chromatography- Mass Spectrometry
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-Visible
<b>VHI</b>	Virus de Inmunodeficiencia Humana
<b>VHS-1</b>	Virus del Herpes Simplex tipo 1
<b>VHS-2</b>	Virus del Herpes Simplex tipo 2

Tanto en animales como en vegetales, la energía necesaria para que sucedan los fenómenos vitales, proviene de una cadena de reacciones de oxidación y reducción, en las que se producen sustancias (metabolitos) útiles para el crecimiento, la reproducción y la adaptación al medio ambiente del organismo.<sup>1</sup>

### 1.1 Metabolismo primario y secundario

Los compuestos orgánicos que se encuentran en los organismos vivos se pueden dividir, en dos tipos principales: metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son los más abundantes y se encuentran sin excepción en todo tipo de organismo viviente. Se denominan así por construir la base fundamental y común de los procesos vitales; estos incluyen a los carbohidratos, las proteínas, las grasas y los ácidos nucleicos y en su ausencia el organismo muere.

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUCCIÓN**

Tanto en animales como en vegetales, la energía necesaria para que sucedan los fenómenos vitales, proviene de una cadena de reacciones de oxidación y reducción, en las que se producen sustancias (metabolitos) útiles para el crecimiento, la reproducción y la adaptación al medio ambiente del organismo.<sup>1</sup>

#### **1.1 Metabolismo primario y secundario**

Los compuestos orgánicos que se encuentran en los organismos vivos se pueden dividir, en dos tipos principales: metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son los más abundantes y se encuentran sin excepción en todo tipo de organismo viviente. Se denominan así por construir la base fundamental y común de los procesos vitales; estos incluyen a los carbohidratos, las proteínas, las grasas y los ácidos nucleicos y en su ausencia el organismo muere.

Por otro lado, los metabolitos secundarios tienen una distribución limitada en la naturaleza, es decir, un metabolito secundario específico se encuentra con frecuencia en una sola especie o grupos de especies relacionadas mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el reino vegetal. Como su nombre lo indica, no son esenciales para el desarrollo del organismo, aunque ello no excluye la posibilidad de que puedan ser de gran utilidad para el organismo particular que los produce.

Es posible que los metabolitos secundarios no sean producidos por un organismo bajo todas las condiciones, pues algunos se asocian a etapas específicas del desarrollo, como la reproducción y en la mayoría de los casos su función es desconocida. Sin embargo, debido a la importancia de sus efectos biológicos, se ha estudiado el papel que los mismos desempeñan en las plantas. Algunos son indudablemente producidos por razones fácilmente apreciables, por ejemplo: como materiales tóxicos que proveen defensa contra depredadores (herbívoros u hongos), como atrayentes volátiles hacia la misma u otras especies (atrayentes de insectos polinizadores) y como agentes colorantes para atraer o prevenir a otras especies; pero es lógico asumir que todos juegan un rol vital para el bienestar del organismo productor y permiten su adaptación al medio ambiente.<sup>2,3</sup>

## 1.2 Productos Naturales

Cuando los metabolitos secundarios son utilizados para el beneficio del ser humano en cualquier aplicación, suelen ser nombrados productos naturales. Bajo ese concepto se conoce que algunos de ellos son fuente de nuevos compuestos farmacológicamente activos para el tratamiento de diversos padecimientos. En un periodo que va desde 1981 al 2014, han sido aprobados por la FDA un total de 1,562 fármacos para un uso en específico, de los cuales 4 % son productos naturales no modificados y el 21 % son compuestos derivados de un producto natural. Los productos naturales o compuestos derivados de éstos juegan un papel significativo en el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos.<sup>4</sup>

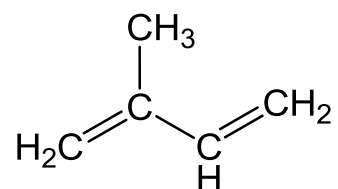
Basado en su origen biosintético, los metabolitos secundarios se pueden clasificar en 3 grupos principales: terpenoides, fenilpropanoides y alcaloides. Los terpenoides derivan del difosfato de isopentenilo y se conocen casi cerca de 60,000 de ellos. Los fenilpropanoides o compuestos fenólicos provienen de las llamadas vías biosintéticas del shikimato y se conocen aproximadamente unos 8,000, mientras que los alcaloides derivan de aminoácidos y de ellos se conocen cerca de 12,000.<sup>5</sup>

La importancia de los metabolitos secundarios en medicina, agricultura y la industria ha llevado a la investigación de su síntesis química, biosíntesis y evaluación de sus diversas actividades biológicas.<sup>6</sup>

### 1.3 Terpenos

Los terpenos son el grupo más numeroso de los productos naturales. El término terpeno proviene del nombre trementina o aguarrás (turpentine en inglés). Su uso se limitó inicialmente a compuestos volátiles aislados de la esencia del pino y otras especies naturales, pero luego se amplió a otras muchas sustancias volátiles y no volátiles.

La estructura de los terpenos consiste de residuos de 2-metilbutano o isopreno (Figura 1) que siguen la regla del isopreno descrita por Ruzicka y Wallach para su construcción. Debido a esto, los terpenos también son llamados isoprenoides. En la naturaleza los terpenos presentan diversos grupos funcionales como alcoholes y sus glucósidos, éteres, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres.



**Figura 1.** Estructura de isopreno

Dependiendo del número de unidades de isopreno, se pueden clasificar en hemiterpenos (C<sub>5</sub>), monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), sesterpenos (C<sub>25</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>), tetraterpenos (C<sub>40</sub>) y politerpenos (C<sub>5</sub>)<sub>n</sub> con n>8.



La parte isopropil del 2-metilbutano es definida como cabeza, y el residuo etilo como cola. En mono-, sesqui-, di-, y sesterpenos las unidades de isopreno se encuentran unidas de tal forma que la cabeza de una unidad se une con la cola de otra. En los terpenos mayores, la construcción parte de unidades de 10 y 15 carbonos que se acoplan a través de los residuos de etilo.<sup>7,8</sup>

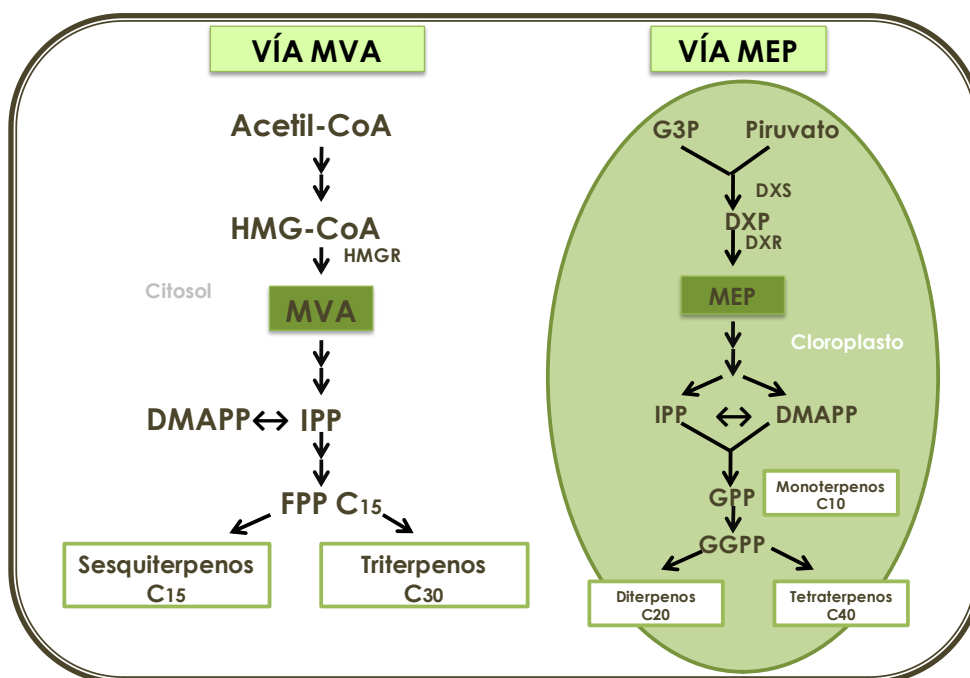
### **1.3.1 Biosíntesis de terpenos**

La gran diversidad de terpenos y terpenoides es producida por un número limitado de rutas biosintéticas, lo cual refleja la eficiencia que prevalece en la naturaleza.<sup>9</sup>

En las plantas, los terpenoides derivan de un precursor universal de 5 carbonos, el difosfato de isoprenilo (IPP) y su isómero alílico, el difosfato de dimetilalilo (DMAPP) estos pueden ser sintetizados en dos vías (Figura 2). La vía del ácido mevalónico opera en el citosol, el retículo endoplásmico y los peroxisomas. Inicia con la condensación de 3 unidades de acetil CoA que lleva la síntesis de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA, el cual luego produce ácido mevalónico. El ácido mevalónico es convertido en difosfato de isopentilo a través del proceso de fosforilación y descarboxilación. La 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa cataliza la reducción de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA a ácido mevalónico. En el citosol el IPP sirve como un

precursor de difosfato de farnesilo (FDP) para dar lugar a los sesquiterpenos ( $C_{15}$ ) y triterpenos ( $C_{30}$ ).

Otra parte importante de la biosíntesis de terpenoides empieza en los cloroplastos por la condensación de ácido pirúvico y gliceraldehído-3-fosfato, lo cual lleva a la síntesis de 1-deoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DXP). La reacción es catalizada por la enzima 1-deoxi-D-xilulosa-5-fosfato sintasa. El DXP se reduce a 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato por 1-deoxy-D-xilulosa-5-fosfato reductoisomerasa. Después se genera el intermediario clave de esta vía, el metil eritritol fosfato (MEP). En el cloroplasto el IPP es el precursor del pifosfato de geranilo (GPP) y pirofosfato de geranil geranilo (GGPP) que da lugar a monoterpenos ( $C_{10}$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ) y tetraterpenos ( $C_{40}$ ).<sup>10,11</sup>



**Figura 2.** Biosíntesis de terpenos

Las enzimas fundamentales en la biosíntesis de los terpenos son: las prenil transferasas cabeza-cabeza y prenil transferasas cabeza-cola, las cuales polimerizan unidades de IPP y DMAPP para formar los precursores FPP, GPP y GGPP. Las terpeno sintasas, que generalmente tienen la función de ciclasas, unen un sustrato lineal a través de una cascada de ciclación de múltiples pasos que es iniciada por la generación y propagación de intermediarios de alta energía como los carbocationes, los cuales pueden dar transposiciones estructurales únicas.<sup>5,12,13</sup>

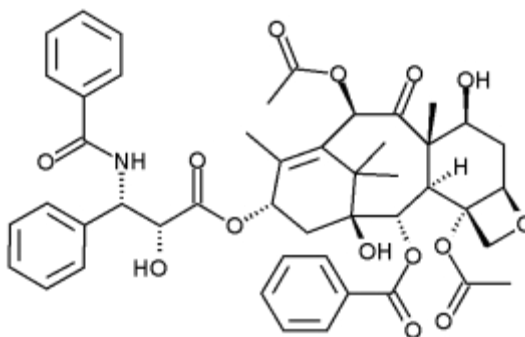
### **1.3.2 Funciones de los terpenos en las plantas**

El rol biológico de un gran número de terpenos permanece desconocido. Algunas investigaciones han demostrado que participan como mediadores antagonistas y que favorecen la interacción planta-planta, actúan como defensa contra depredadores, patógenos y competidores.

Los terpenos en las plantas forman barreras físicas y químicas, son sustancias antibióticas, fitoalexinas, repelentes que inhiben el gusto de los insectos y otros herbívoros, toxinas, atrayentes de polinizadores o dispersores de animales de frutas, selectores de señales para herbívoros y participan en las interacciones micorriza.<sup>14,15 16</sup>

### 1.3.3 Terpenos de importancia médica

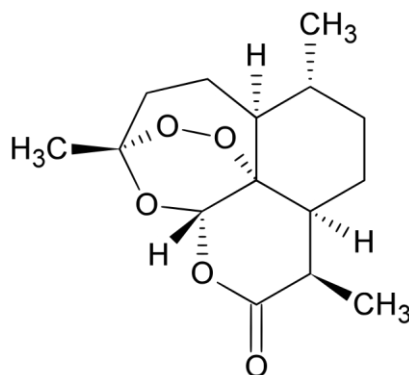
Diversos terpenoides poseen propiedades farmacológicas y biológicas que son benéficas para los humanos. Dos ejemplos de terpenos usados en medicina son el paclitaxel y artemisinina. El primero, un compuesto de tipo diterpeno con una estructura policíclica compleja que contiene un anillo inusual de oxetano (crucial para la actividad) y una cadena lateral  $\beta$ -fenilisoerina esterificada en la posición C-13 (Figura 3). Fue aislado por primera vez en 1966 a partir de un extracto de corteza de *Taxus brevifolia* (Taxaceae) y actualmente es usado en el tratamiento del cáncer. El paclitaxel promueve el ensamble irreversible de la tubulina en los microtúbulos y de esta manera interrumpe la mitosis.<sup>17</sup>



**Figura 3.** Estructura de paclitaxel

La artemisinina fue aislada por primera vez a principios de 1970's de un extracto de flores y hojas de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) y es una lactona sesquiterpénica unida a un puente endo-peróxido inusual que da origen a un anillo 1,2,4-trioxano que es

crucial para la actividad antimalaria (Figura 4). Diversos reportes respaldan que el endoperoxido causa la muerte en todas las etapas asexuales del parásito, *Plasmodium falciparum*, por inhibición de la ATPasa-  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo saco-endoplásmico.<sup>18</sup> En 2015 Youyou Tu compartió el premio nobel en Fisiología y Medicina por sus descubrimientos concernientes a la terapia contra enfermedades parasitarias enfocados en el aislamiento de la artemisinina. Este producto natural es usado en todas la partes del mundo infestadas con malaria, cuando se usa en terapia combinada, se estima que reduce la mortalidad por malaria en más del 20% en general y más del 30% en niños. Solo para África, esto significa que más de 100, 000 vidas se salvan cada año.<sup>19</sup>



**Figura 4.** Estructura de artemisinina

Otros compuestos de tipo terpenoide con potencial farmacológico son el D-Limoneno, un monoterpeno usado como quimiopreventivo y terapéutico contra varias células tumorales. La carvona, un monoterpeno que ha demostrado que previene el desarrollo de carcinoma de pulmón inducido químicamente. El mecanismo de acción de monoterpenos contra las células tumorales es a través de la inducción de apoptosis e

interferencia en la prenilación de proteínas regulatorias clave. Las sesquiterpenlactonas de tipo germacranólido, guayanólido y eudesmanólido han mostrado actividad antituberculosis con CMI en un rango de 2  $\mu\text{g/mL}$  a  $>128 \mu\text{g/mL}$ . El salmahyrtisol, es un sesterpeno que mostró actividad citotóxica contra leucemia murina, carcinoma de pulmón humano y carcinoma de colon humano. El Ácido betulínico, es un triterpeno pentacíclico que muestra efectos antivirales y anticáncer. El  $\beta$ -sitosterol, es un triterpeno usado para prevenir y aliviar síntomas relacionados con problemas de la próstata.

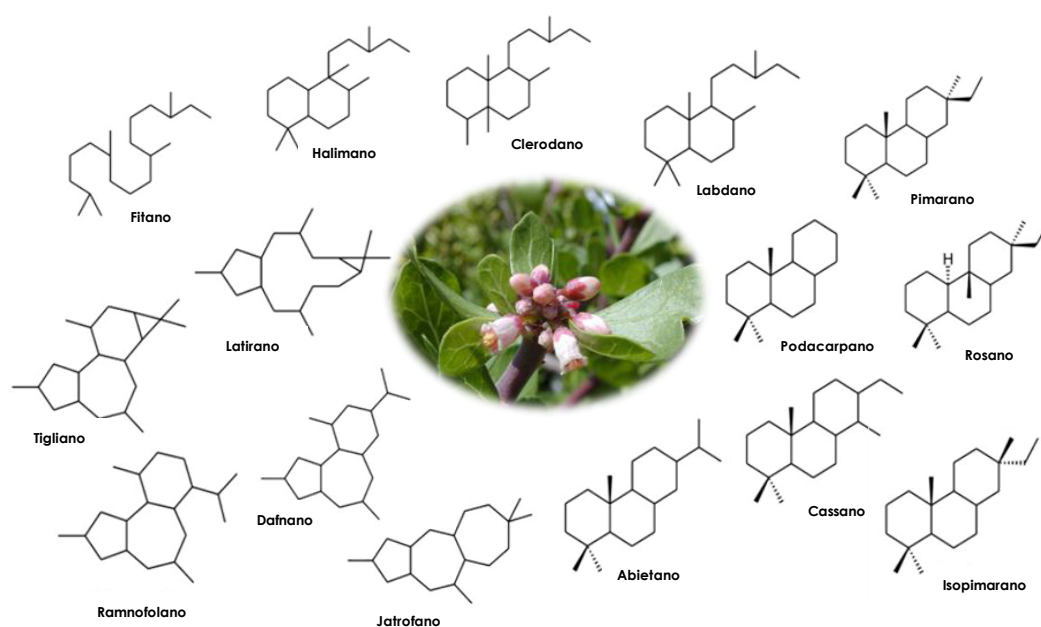
11,20,21,22

#### **1.4 Diterpenos del género *Jatropha***

El género *Jatropha* (Euporbiaceae) comprende alrededor de 175 especies de plantas suculentas, arbustos y árboles. Independientemente de la especie, se han empleado los extractos de diferentes partes como hojas, tallos, cortezas y raíces de plantas *Jatropha* en etnomedicina.

En particular, *Jatropha* es una de las fuentes más ricas en fitoquímicos como alcaloides, lignanos, péptidos cíclicos y terpenos con un amplio rango de actividades biológicas. Entre los terpenos, los diterpenos caracterizados de diferentes especies de *Jatropha* tienen diversas actividades como citotóxicas, antitumorales, anti-inflamatorias, molusquicidas, insecticidas y fungicidas. Los esqueletos de diterpenos aislados del

género *Jatropha* (Figura 5) comprenden una gran diversidad que incluye estructuras acíclicas, bicíclicas, tríciclicas y tetracíclicas.<sup>6,21</sup>



**Figura 5.** Esqueletos de diterpeno de plantas del género *Jatropha*

Algunas especies de donde se han aislado e identificado los diversos esqueletos de diterpenos mostrados en la Figura 5 son: *J. curcas*, *J. gossypifolia*, *J. elliptica*, *J. glandulifera*, *J. integerrima*, *J. weddelliana*, *J. gaumeri*, *J. multifida*, *J. grossidentata*, *J. podagrica*, *J. dioica*, *J. isabelli*, *J. microrhiza*, *J. divaricata*, *J. phyllacantha*, *J. zeyheri*.<sup>6,23</sup>

### 1.5 Biogénesis de diterpenos

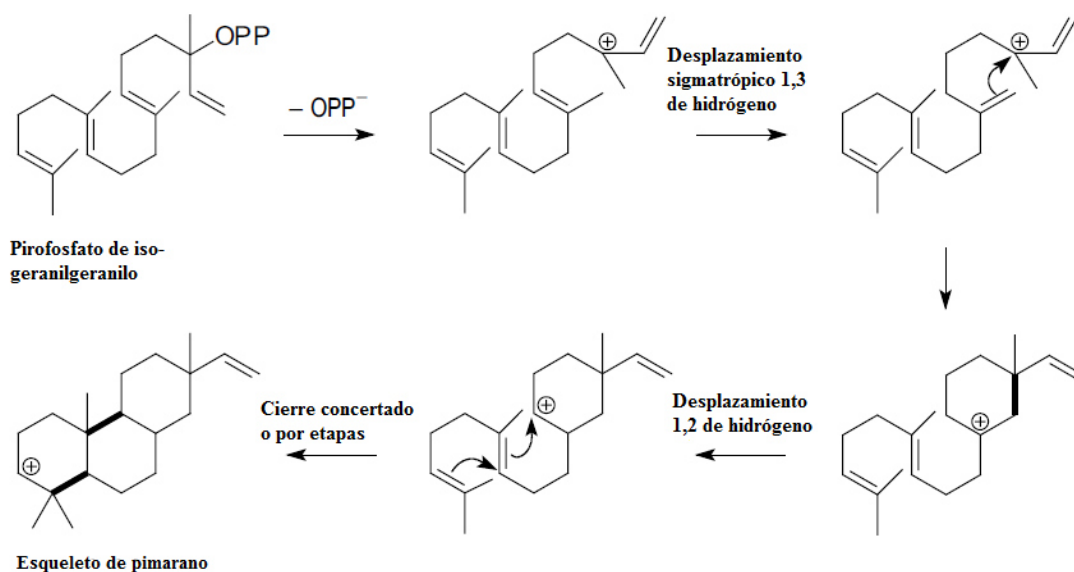
En la biogénesis de diterpenos cíclicos y policíclicos están involucrados intermediarios de tipo carbenio, pero evidencia de esto *in vivo* solo se presenta en casos específicos. Reacciones adicionales como transposición de Wagner-Meerwein (desplazamientos 1,2 de hidrógeno, 1,2 de grupos alquilo) y reordenamiento de Cope (reacciones sigmatrópicas), dan origen a una gran diversidad de terpenos.<sup>8</sup>

En algunos casos se producen transposiciones catiónicas múltiples en cascada en las que se ven implicados varios átomos de hidrógeno o carbono, al tiempo que la carga positiva se traslada a posiciones alejadas del origen de la carga en dos o más carbonos. Se creía que transposiciones en serie ocurren en procesos concertados, pero hoy se sabe que no es así.<sup>9</sup>

En la biogénesis de diterpenos el proceso inicial es casi siempre una deficiencia electrónica como consecuencia de la protonación de un doble enlace  $C=C$  o la apertura de un époxido. El grupo pirofosfato acaba por desaparecer en un paso posterior, por simple hidrólisis y a veces con la creación/aparición paralela de un doble enlace  $C-C$ . Pero en algunos diterpenos ocurre la heterólisis del enlace  $C-O$  del grupo pirofosfato como paso inicial.<sup>2</sup>



Por ejemplo el pimarano (Figura 6), tiene su origen en el pirofosfato de isogeranilgeranilo. Después de la disociación del anión pirofosfato, el catión alílico acíclico resultante presenta un desplazamiento sigmatrópico 1,3 de hidrógeno, de este modo se cicla a un ion carbenio monocíclico, el cual se isomeriza al precursor iónico del esqueleto de pimarano.<sup>8</sup>



**Figura 6.** Biogénesis de pimarano

## 1.6 Estudio de las rutas biosintéticas

Aunque biogénesis y biosíntesis son términos que se usan algunas veces indiscriminadamente, es habitual utilizar el primer término para una hipótesis, y el último para una ruta sintética probada experimentalmente. En una ruta biosintética la secuencia de transformaciones químicas, con pocas excepciones, son catalizadas por

enzimas. El objetivo de su investigación es determinar la secuencia de reacciones, caracterizar las enzimas involucradas y de ser posible, establecer la secuencia de genes que codifica para su síntesis.

El estudio biosintético empieza con especulación, comparando compuestos estructuralmente relacionados y sugiriendo posibles interrelaciones basadas en reacciones químicas conocidas. Para demostrar posteriormente la veracidad de esto, es necesario demostrar que un compuesto es convertido en otro en un organismo vivo eventualmente por una enzima. Esto puede estudiarse *in vivo*, alimentando una planta, un microorganismo, un tejido animal, etc; con un compuesto marcado isotópicamente que produce el metabolito requerido. Es un requisito que el organismo sintetice el metabolito durante el proceso de alimentación, si este puede ingresar a las células directamente con el compuesto marcado. El metabolito es aislado, purificado y analizado para detectar la presencia del isótopo. La formación del producto marcado es interpretada como una demostración de la relación precursor-producto. Debe confirmarse que la posición del marcaje en el producto es la misma que en el precursor. Una ruta biosintética factible puede ser propuesta combinando resultados de una serie de experimentos de marcaje con diferentes sustratos etiquetados.<sup>3,24,25</sup>

El planteamiento de hipótesis de rutas biogénéticas se realiza mediante métodos computacionales, como una estrategia alternativa para evaluar y establecer las rutas que explican el origen de los diferentes productos naturales, dado que la simulación química de los procesos biogénéticos está basada en el hecho de que las reacciones que tienen

lugar *in vivo*, siguen los mismos principios generales de las transformaciones *in vitro*.<sup>26,27</sup>

Con estudios teóricos (mediante el empleo de cálculos de mecánica cuántica) se puede evaluar la transposición de los carbocationes involucrados en la biosíntesis de terpenos. Una variedad de métodos de química cuántica están disponibles para explorar los detalles de la formación de terpenos por transposición de carbocationes: los métodos semiempíricos (CNDO/2, INDO, AM1, PM6) que están parametrizados mediante datos experimentales, los métodos Hartree- Fock (HF) que son completamente mecánica cuántica pero sin incluir correlación electrónica y los métodos post-HF (MPn, CCSD (T), QCISD (T) que incorporan la correlación electrónica en varias formas. En general estos métodos son precisos y su costo computacional es elevado (tiempo de cálculo). Hay otra familia de métodos que trata la correlación electrónica, basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) (B3LPYP, mPW1PW91, BB1K, PW91). Estos métodos se comparan en costo computacional a HF y MP2, dependiendo del sistema y tipo de cálculo realizado. Las funciones de base usadas para cada método varían. Todos estos métodos pueden ser aplicados para carbocationes o aniones aislados, o en presencia de pequeños modelos de grupos funcionales presentes en los sitios activos de las enzimas.<sup>28</sup>

Con el uso de la mecánica cuántica se pueden predecir estructuras moleculares, energías de intermediarios y estructuras de estados de transición tanto como reactivos conformacionales. Algunos cálculos pueden ser usados para caracterizar porciones de las

rutas de reacción entre ellos y los cálculos de coordenada de reacción intrínseca (IRC). Estos cálculos parten de la estructura del estado de transición y caracterizan la trayectoria de reacción. Los métodos DFT, son comúnmente empleados para calcular geometrías de carbocationes o aniones precursores de terpenos, aunque otros métodos son algunas veces usados para este propósito y son frecuentemente usados para el cálculo de energías relativas.

Una variedad de estudios han comparado métodos DFT y Post-HF en sus habilidades para predecir geometrías de carbocationes y superficie de energía potencial para el reordenamiento de estos. Aunque los resultados de estos métodos generalmente están en concordancia el uno con otro, algunas veces pueden no estarlo. Estos casos se presentan cuando el carbocatión reside en una región plana de la superficie de energía potencial.<sup>29</sup>

## 1.7 Antecedentes

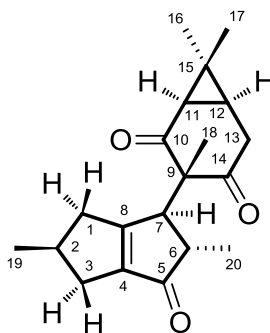
*Jatropha dioica* pertenece al género *Jatropha* de la familia Euphorbiaceae. Se conoce comúnmente como sangre de drago. Es un arbusto de aproximadamente 70 cm de altura, con tallos oscuros, lisos, correosos, fibrosos, flexibles, tienen savia clara astringente, que al contacto con el oxígeno del aire se torna rojizo (látex rojizo), las hojas son fasciculadas lineales a espatuladas, a veces lobuladas de 1-7 cm, flores blancas

y rosas muy pequeñas presentes en época de lluvia y frutos con semilla negra globosa de 8-10 mm.<sup>30</sup>

Es una planta común de regiones áridas del noreste de México; según la medicina tradicional las raíces son masticadas para aliviar el dolor de muelas e infecciones bucales.

En 1980 a partir del extracto de éter de petróleo de la raíz de *J.dioica*, que presentó actividad contra *Staphylococcus aureus*, se aisló el diterpeno riolozatriona. Este compuesto representó un nuevo tipo estructural al que se denominó como esqueleto de tipo riolozano. En este mismo reporte se siguiere que la biogénesis de riolozatriona puede provenir de un esqueleto de tipo latirano.<sup>31</sup>

La estructura de riolozatriona consiste de dos anillos de cinco miembros fusionados que comparten un doble enlace (Figura 7). Uno de los anillos de cinco miembros exhibe una conformación de sobre, mientras que el otro contiene un segmento de cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada y es plano. El doble enlace desvía del plano al anillo 6.5°. Además, la ciclohexano-1,3-diona que contiene fusionado un anillo de dimetilciclopropano, se encuentra unida al anillo de cinco miembros que contiene el grupo carbonilo (posición 7). La ciclohexano-1,3-diona exhibe una conformación 1,2-diplanar.<sup>6</sup>

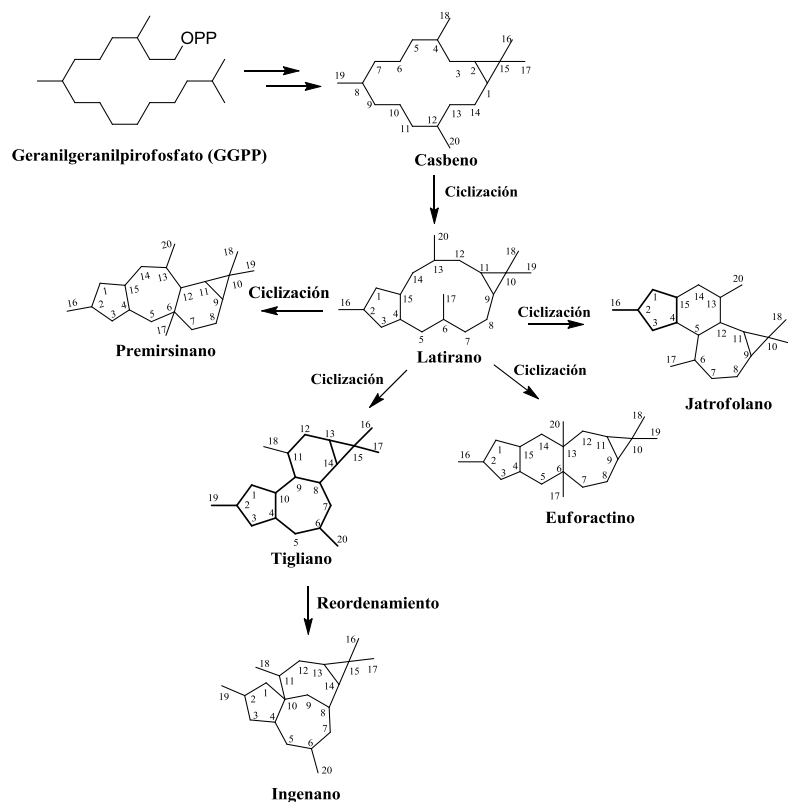


**Figura 7.** Estructura química de riolozatriona

Recientemente, en un estudio llevado a cabo en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la UANL, por Silva y cols., se obtuvo a través de un aislamiento biodirigido del extracto de hexano de la raíz de *Jatropha dioica*, al diterpeno riolozatriona como el componente más activo antiherpético *in vitro*, con una concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ) de 66  $\mu\text{g/mL}$  para VHS-1 y VHS-2 mediante el ensayo de reducción de placas virales. A su vez se determinó la concentración citotóxica media del compuesto ( $CC_{50}$ ) mediante el ensayo de MTT con un valor de 384  $\mu\text{g/mL}$ . De esta manera se determinó un índice de selectividad de 5.8.<sup>32</sup>

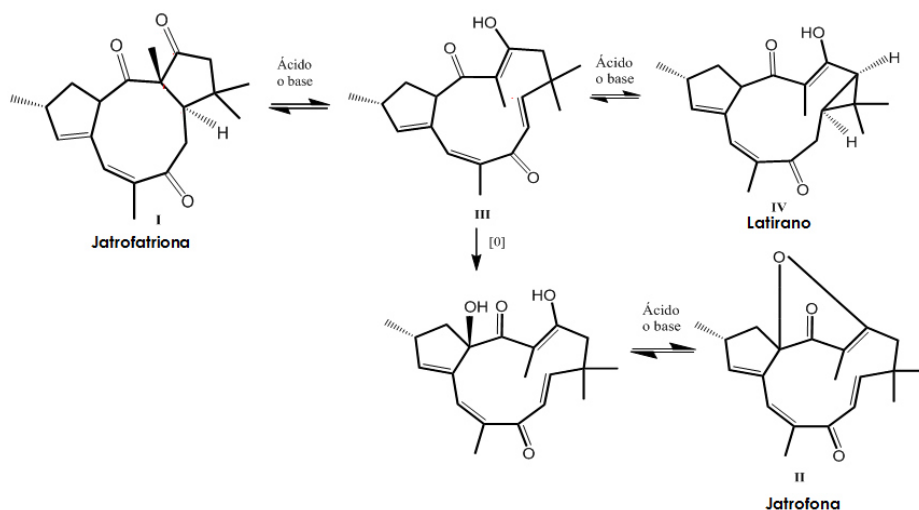
Se ha reportado en la literatura que varios diterpenos policíclicos presentes en la mayoría de las especies de la familia Euphorbiaceae se forman por ciclación intramolecular del casbeno. Los diterpenos que tienen en común el anillo *gem*-dimetilciclopropano, incluyen esqueletos de tipo tigliano, euforactino, ingenano, premirsinano y jatrolano, los cuales derivan de ciclaciones posteriores en el esqueleto de latirano (Figura 8).<sup>33</sup>

De los compuestos mencionados anteriormente los esqueletos de tipo premirsinano y tigliano cuentan con un sistema [5.7.6.3] que podrían ser precursores del esqueleto de riolozano que presenta el diterpeno riolozatriona.



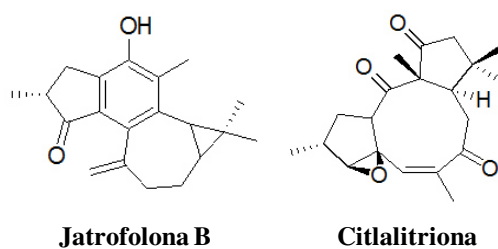
**Figura 8.** Esqueletos de diterpenos derivados de casbano

En 1976 Torrance y colaboradores reportaron el aislamiento de jatrofatriona a partir de un extracto de *Jatropha macrorrhiza* y sugirieron que la biogénesis de jatrofatriona está relacionada con un intermediario de tipo latirano (Figura 9).<sup>34</sup>



**Figura 9.** Hipótesis biogenética de la biosíntesis de jatrophatriona.

Posteriormente Domínguez reportó el aislamiento de citlaltiriona y jatrolona B (Figura 10) a partir de extractos de la raíz de *Jatropha dioica*.<sup>35</sup> En virtud de que jatrophatriona se relaciona biogenéticamente con un esqueleto de tipo latirano, y dado en el reporte de Domínguez se sugiere que riolozatriona podría provenir de un latirano, tanto citlaltiriona como jatrophatriona podrían considerarse precursores de riolozatriona debido a la similitud estructural que existe entre ambos. Ambos metabolitos secundarios, jatrophatriona y citlaltiriona, son ejemplares de diterpenos de tipo ciclojatrofano.



**Figura 10.** Diterpenos aislados de *Jatropha dioica*



La riqueza estructural de los metabolitos secundarios de *Jatropha dioica* habla de su grado evolutivo y de la capacidad de adaptación de la planta, dado que tanto la fragmentación del esqueleto como la incorporación de átomos de oxígeno no es común en los diterpenos.

### 1.8 Justificación

- › La riolozatriona tiene un esqueleto de diterpeno único en estructura. Se ha señalado que puede provenir de la transposición de un derivado de latirol u otro precursor macrocíclico, sin embargo, hasta el momento no hay reportes en la literatura sobre su biogénesis.
- › El estudio de las rutas biogenéticas permite el desarrollo de estrategias sintéticas y biotecnológicas, que son importantes en la obtención de nuevas estructuras con actividad biológica.
- › El empleo de métodos computacionales representa una estrategia alternativa para la evaluación de rutas biogenéticas que dan origen a los diferentes productos naturales, entre ellos, riolozatriona.

## 1.9 Hipótesis

El uso de métodos computacionales permitirá establecer por lo menos una ruta biogenética comprobable que demuestre el origen de la riolozatriona

## 2.0 Objetivos

### 2.1 Objetivo General

Realizar el estudio teórico de la biogénesis de riolozatriona, comprobar experimentalmente la presencia de los posibles precursores metabólicos en los extractos de *Jatropha dioica* y evaluar su actividad biológica.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Analizar y evaluar mediante métodos computacionales una ruta biogénica razonable para la formación de riolozatriona.
2. Aislar y caracterizar los precursores de riolozatriona en los extractos de *Jatropha dioica*.
3. Determinar la actividad antiviral *in vitro* de los precursores de riolozatriona.

## CAPÍTULO 2

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### 2.1 Material, Equipos y Reactivos

##### 2.1.1 Material Biológico

- Parte aérea y raíz de la planta *Jatropha dioica* (folio de identificación UAN-24077), Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.
- Células epiteliales de riñón de mono verde africano *Chlorocebus sabaeus* (Vero) Donadas por el Dr. Miguel Déctor, del departamento de Genética de la Facultad de Medicina, UANL.
- Aislado clínico de virus del herpes simplex tipo 1 (VHS-1), orofacial confirmado en cultivo celular y mediante el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el gen timidina-quinasa (*tk*) con primers específicos contra VHS-1,

típicos por el Dr. Ernesto Torres del laboratorio de Inmunovirología del departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, UANL.

- Aislado clínico de virus del herpes simplex tipo 2 (VHS-2), área genital de pacientes del departamento de Dermatología, confirmado en cultivo celular y mediante el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el gen timidina-quinasa (*tk*) con primers específicos contra VHS-1, típicos por el Dr. Ernesto Torres del laboratorio de Inmunovirología del departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, UANL.

### **2.1.2 Material de Laboratorio**

- Acrodiscos (PTFE) 0.45  $\mu\text{m}$ , 13 mm no estéril MILLIPORE®
- Acrodiscos PVDF 45 mm de diámetro con filtro de 0.22  $\mu\text{m}$  MILLIPORE®
- Anillo de hierro
- Botellas para cultivo celular de 25 (T25), 75 (T-75) y 175 (T175)  $\text{cm}^2$  forma inclinada con tapón de rosca, estéril CORNING®
- Bulbo cilíndrico 1 mL
- Cajas Petri desechables de plástico Medegen 15 X 100 mm
- Capilares de 2, 5 y 10  $\mu\text{L}$  DrummonWiretrol ®
- Columna AccQ Tag 3.9 x 150 mm tamaño de partícula 4  $\mu\text{m}$
- Columnas para cromatografías de baja presión de diversos tamaños

- Cromatofolios Al TLC Sílica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck ®
- Cromatoplasmas TLC RP-18 F<sub>254</sub>S, Merck ®
- Cubas CAMAG para cromatografías TLC 21 X 5 X 10 cm
- Cubas CAMAG para cromatografías TLC 13 X 8 X 10 cm
- Embudo de filtración rápida
- Embudo de separación 250 y 1000 mL
- Espátula
- Filtros de papel 40 Whatman ®
- Gradilla para 60 tubos
- Guantes de látex estéril
- Jeringa autoclaveable 1.5 mL
- Jeringas 1 y 5 mL Becton –Dickinson®
- Matraz bola de 100, 250, 500 y 1000 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 y 500 mL
- Pipeta automáticas 100-1000 µL, Eppendorf ®
- Pipeta automáticas 10-100 µL Eppendorf ®
- Pipeta automática multicanal 20-200 µL Transferpette®
- Pipetas lineales 5 y 10 mL
- Pipeta Pasteur
- Pipetas serológicas estériles 1, 2, 5 y 10mL CORNING®

- Pizetas 500 mL
- Placas de porcelana con 12 pocillos
- Placas de 96 pocillos (Poliestireno) de fondo plano estéril COSTAR®
- Placas de 6 pozos de fondo plano, estéril CORNING®
- Pomadera de vidrio ámbar
- Probeta 10, 25, 100 y 250 mL
- Puntillas estériles y desechables de 10-100  $\mu\text{L}$  y 100-1000  $\mu\text{L}$
- Soporte Universal
- Tubos cónicos 15 y 50 mL, estéril CORNING®
- Tubos de ensayo 13 x 100, 18 x 150 PYREX ®
- Tubos de ensayo 13 x 100 con tapón de rosca
- Tubos de eppendorf 0.6 y 1.5 mL, estériles Eppendorf ®
- Varilla de vidrio
- Vaso de precipitado 50, 250 y 500 mL
- Viales de vidrio de 3 mL
- Vidrio de reloj

### 2.1.3 Equipo

- Agitador Heidolph Instruments Unimax 1010
- Balanza analítica AND GR-120
- Balanza granataria OHAUS®
- Bomba de vacío GAST modelo 1-HAB-25-M100X
- Bomba de vacío LABCONCO® modelo 117
- Bomba de vacío Welch® modelo 2025
- Bomba para refrigerante HAAKE ® K20
- Campana de extracción Lumistell ® CEE-120
- Campana de flujo laminar ESCO® SMART CONTROL
- Campana de flujo laminar. CCI. Forma Scientific, BSL-2.
- Centrifuga IEC MICRO-MB
- Colector de fracciones BIO RAD® modelo 2128
- Cromatógrafo de Líquidos Analítico Waters 1525 con detector arreglo de diodos Waters 2996.
- Cronómetro CONTROL COMPANY
- Difractómetro Bruker-Nonius
- Espectrofotómetro 340, Turner
- Espectrómetro de DCV Chiral*IR*

- Espectrómetro de masas Joel modelo JMS-T100LC
- Espectrómetro de masas Jeol modelo AccuTOF JMS-T100LC.
- Espectrómetro de masas Sciex, QTRAP 4000
- Espectrómetro de RMN modelo Avance III HD, 400 MHz Bruker
- Espectrómetro de RMN modelo Eclipse 300 MHz Joel
- Espectrofotómetro DU 7500 Beckman
- Estufa SHEL LAB® 1305 U
- Incubadora con CO<sub>2</sub> Incu Safe copper alloy Sanyo®
- Incubadora con agitación SHEL LAB®
- Invertoscopio Axiovert 40 CFC Zeiss®
- Lámpara de luz Ultravioleta de onda corta y larga (254 y 365 nm)
- Plancha de calentamiento Thermolyne Cimarec 2
- Potenciómetro BECKMAN ® φ 61
- Refrigerador DAEWOO ®
- Rotavapor Heidolph LABOROTA 4000-efficient
- Rotavapor BÜCHI RE 121 con baño de agua BÜCHI 461
- Secadora TROCKENPULT®
- Ultrasonido BRANSON 2510
- Vórtex MINI VORTEXER Scientific Products



### 2.1.4 Reactivos

- Aciclovir (ACV) Marca Laciken<sup>®</sup>
- DMEM- Advanced (Medio Eagles Modificación De Dulbecco) Biowest<sup>®</sup>
- Aminoácidos no esenciales (MEM NEAA,100x) Invitrogen<sup>®</sup>
- Antibióticos (penicilina/streptomicina) 20X Gibco<sup>®</sup>
- Bromuro de 3-(4,5-Dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio, Invitrogen<sup>®</sup>
- Buffer Fosfato Salino (PBS) Biowest<sup>®</sup>
- Colorante de Giemsa 10X Aldrich<sup>®</sup>
- Dodecilsulfato sódico SDS Calbiochem<sup>®</sup>
- Estreptomicina/penicilina Gibco<sup>®</sup>
- Inmunoglobulina Humana Normal (IgG) Flegogamma Grifols<sup>®</sup>
- L-Glutamina Invitrogen<sup>®</sup>
- Nitrógeno gas alta pureza
- Suero Bovino Fetal (FBS,CERT,USA ORIGIN) Invitrogen<sup>®</sup>
- Tripsina 0.25% Invitrogen<sup>®</sup>
- Arena de mar
- Sílica (0.04-0.063  $\mu\text{m}$ ) Aldrich<sup>®</sup>
- Sílica LiChroprep RP-18 (40-63  $\mu\text{m}$ ) Merck<sup>®</sup>

### 2.1.5 Disolventes

- Acetato de etilo grado analítico, Fermont
- Acetona grado analítico, Fermont
- Acetonitrilo grado HPLC, J.T. BAKER
- Agua destilada, Laboratorios Monterrey
- Agua bidestilada, Laboratorios Monterrey
- Alcohol butílico grado analítico, Fermont
- Alcohol etílico absoluto, CTR scientific
- Cloroformo grado HPLC, Burdick & Jackson
- Cloroformo-*d* 99.8 % deuterado, Aldrich
- Diclorometano grado reactivo, CTR Scientific
- Dimetil sulfóxido (DMSO), Fermont
- Hexano grado analítico, Fermont
- Metanol ACS, Fermont
- Metanol grado HPLC, TEDIA
- Metanol *d*-4 99.8% deuterado, Sigma-Aldrich

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Estudio Computacional de la Biogénesis de Rioloatriona**

#### **2.2.1.1 Planteamiento del Mecanismo de Reacción de la Biogénesis de Rioloatriona**

Se realizó una búsqueda bibliográfica para determinar los posibles precursores de rioloatriona, los posibles intermediarios y las reacciones involucradas en la generación de esos intermediarios.<sup>10,36,37</sup>

#### **2.2.1.2 Análisis Conformacional de Intermediarios de Reacción en el Mecanismo de Biogénesis de Rioloatriona**

Se realizó el análisis conformacional con el programa ComputeVOA con un campo de fuerza MMFF94 en un rango de 10 kcal/mol. Una vez realizado el análisis conformacional se optimizaron las estructuras a nivel M062x/ 6-311+G (d,p) utilizando GAUSSIAN 09 y GAUSSVIEW.

### **2.2.1.3 Determinación de las Estructuras de los Estados de Transición**

Las estructuras de los estados de transición se determinaron con el programa GAUSSIAN 09 y GAUSSVIEW mediante el uso de las opciones TS, QST2 y QST3 con el nivel PM6. Se comprobó la autenticidad de los estados de transición con el análisis de los modos normales de vibración y con los cálculos de coordenada de reacción intrínseca (IRC).

### **2.2.1.4 Construcción de los Diagramas de Energía para el Mecanismo Propuesto**

Con base al cálculo de las energías de los mínimos y los estados de transición con la metodología presentada en 2.2.1.3 se calculó la energía relativa de cada reacción y se construyeron los diagramas de energía.

## **2.2.2 Aislamiento de los Precursores de Rioloatriona**

### **2.2.2.1 Colecta de la Planta**

La planta se recolectó en el ejido "El Potrero" perteneciente al municipio de Villaldama, Nuevo León, México. Se realizaron colectas en primavera, verano, otoño e invierno en un periodo comprendido del año 2012 al año 2016.

#### **2.2.2.2 Obtención de Extractos**

La planta se secó a temperatura ambiente por un período de 2 semanas aproximadamente, se separó la raíz y se molió en licuadora. Una cantidad de 252 gramos de la raíz pulverizada se sometió a extracción directa con diclorometano, agitando durante una hora a temperatura ambiente, en 3 repeticiones. El extracto recuperado se llevó a sequedad por evaporación a presión reducida a 37 °C. Se calculó el porcentaje de recuperación del extracto y finalmente se almacenó en un frasco ámbar con atmósfera de nitrógeno a 4 °C hasta su uso.

#### **2.2.2.3 Separación Cromatográfica**

Se utilizó cromatografía en columna a baja presión para la separación de los componentes del extracto de diclorometano de *Jatropha dioica*. Se realizaron varias columnas empacadas con gel de sílica (0.04-0.063  $\mu\text{m}$ ) que se eluyeron primero con diclorometano/acetona (19:1), las fracciones de interés obtenidas se sometieron a separación posteriormente con un sistema de elución hexano/acetato de etilo (7:3). Finalmente las fracciones enriquecidas con los compuestos se purificaron por

cromatografía en columna fase inversa, las cuales se empacaron con LiChroprep RP-18 (40-63  $\mu\text{m}$ ) y se eluyeron con metanol/agua (7:3). Se calculó el porcentaje de recuperación de los compuestos.<sup>38,39</sup>

#### **2.2.2.4 Análisis de la Separación Cromatográfica**

Los extractos, las fracciones y los compuestos obtenidos se analizaron por Cromatografía en Capa Fina (CCF) y por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

##### **2.2.2.4.1 Análisis de la Separación Cromatográfica por CCF**

Para el análisis de los extractos, las fracciones y los compuestos puros se utilizaron cromatofolios de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> en soporte de aluminio y se eluyeron con fases de distinta polaridad: diclorometano/hexano (9:1) y hexano/ acetato de etilo (6:4). Además se utilizaron cromatofolios fase inversa RP-18 que se eluyeron con una fase que consistió en metanol/agua (7:3). Como sistema revelador se utilizó una cámara de luz ultravioleta a  $\lambda$  de onda corta y larga.<sup>39</sup>

#### **2.2.2.4.2 Análisis de la Separación Cromatográfica por CLAR**

Los extractos y las fracciones obtenidas, así como los compuestos puros se analizaron por CLAR, con una columna AccQ Tag 3.9 x 150 mm tamaño de partícula 4  $\mu\text{m}$  y un sistema de elución isocrático acetonitrilo/agua en una proporción 50:50. El volumen de inyección fue de 10  $\mu\text{L}$ , el flujo de 0.2 mL/ min con un tiempo de corrida de 35 minutos.

#### **2.2.2.5 Caracterización Estructural de los Compuestos Obtenidos**

##### **2.2.2.5.1 Determinación del Punto de Fusión**

El punto de fusión de los compuestos cristalizados fue determinado en un aparato Electrothermal.

##### **2.2.2.5.2 Espectroscopia Ultravioleta Visible**

A partir de una solución stock de 1 mg/ mL se prepararon soluciones estándar de 50  $\mu\text{g/mL}$  de los compuestos, se utilizó metanol como disolvente y se analizaron en un Espectrofotómetro Beckman DU 7500 con celdas de cuarzo. Se utilizó un blanco de

metanol para ajustar el equipo. Se determinaron los máximos de absorción y se calculó la absorptividad molar con base a la ley de Lambert-Beer.

#### **2.2.2.5.3 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear**

Cinco miligramos de los compuestos puros previamente secos se disolvieron en 0.5 mL de cloroformo-*d* (99.8% D) y/o metanol-*d*<sub>4</sub> (99.8% D) y se realizaron los espectros de resonancia de una dimensión (<sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN) y de dos dimensiones (COSY, HMQC, HMBC, NOESY) en un Espectrómetro de RMN modelo Avance III HD, 400 MHz, marca Bruker equipado con gradientes y Espectrómetro de RMN Avance, 750 MHz marca Bruker.

#### **2.2.2.5.4 Espectrometría de Masas**

Dos miligramos de los compuestos se utilizaron para el análisis por espectrometría de masas para determinar su  $m/z$   $[M]^+$ . Los análisis de masas de baja resolución para riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona se realizaron con una fuente de ionización DART+ en espectrómetro de masas Joel, JMS-T100LC. El análisis de masas de alta resolución de 6-*epi*-riolozatriona se realizó con una fuente de ionización DART+ y modo de ionización ESI+ en un espectrómetro de masas Jeol, The AccuTOF JMS-T100LC. Los análisis de masas de baja resolución de jatrofatriona, citlalitriona y de la



mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona se realizaron en un espectrómetro de masas QTRAP 4000, Sciex.

#### 2.2.2.6 Determinación de la Configuración Absoluta de los Compuestos

La determinación de la configuración absoluta se hizo a través de dos métodos de análisis: Dicroísmo Circular Vibracional (DCV) experimental y calculado y Difracción de Rayos X.

##### 2.2.2.6.1 Dicroísmo Circular Vibracional (DCV)

**DCV Experimental.** Para la evaluación de los compuestos por DCV en el rango de 1550 a 950  $\text{cm}^{-1}$  se usaron 8.8 mg de riolozatriona, 7.5 mg de jatrofatriona, 5 mg de citalitriona y 5 mg de 6-*epi*-riolozatriona los cuales se disolvieron por separado en  $\text{CDCl}_3$  y se colocaron en una celda de  $\text{BaF}_2$  a una longitud de onda de 100  $\mu\text{m}$ . Los espectros de Infrarrojo y DCV fueron realizados en un espectrómetro de DCV Chiral/IR<sup>TM</sup> a con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . El instrumento se optimizó a 1400  $\text{cm}^{-1}$ . Se hizo una resta del espectro del solvente de los espectros de IR y DCV de cada caso.

**DCV Calculado.** Los espectros calculados de DCV se hicieron mediante el uso del programa *ComputeVOA* para realizar la búsqueda conformacional con mecánica

molecular y el campo de fuerzas MMFF94. Se tomaron en cuenta los conformeros con energía contenida en un intervalo de 10 kcal/mol por arriba del conformero más estable. Los conformeros se optimizaron con el funcional B3PW91/DGDZVP. A partir de la estructura optimizada se calcularon los momentos dipolares eléctricos y fuerzas rotacionales para obtener el espectro de infrarrojo y el de dicroísmo circular vibracional.

Los espectros experimentales y calculados se compararon mediante el software comercial *Compare VOA*. En la comparación de los espectros IR se obtuvo el índice anH, se calculó el valor  $S_{IR}$ , el valor  $S_E$  y el valor  $S_{-E}$ .

#### **2.2.2.6.2 Difracción de Rayos X**

Un monocristal de los compuestos se montó en un difractómetro Bruker-Nonius CAD4 en modo scan  $\omega$ -2 $\theta$ . Los cristales se midieron con una radiación Cu K $\alpha$  ( $\lambda$  = 1.54184 Å) at 293(2) K. Los datos de colección de rutina, refinamiento de la celda y el procesamiento de los datos se llevo a cabo con el programa APEX2.41. Las estructuras fueron resultas mediante el uso del programa SHELXS, el refinamiento se realizó con SHELXL-2014/7.42. Las configuraciones absolutas se establecieron a partir de los efectos de dispersión anómala.

### **2.2.3 Determinación de la Actividad Biológica *in vitro* de los Precursores de Rioloatriona**

#### **2.2.3.1 Determinación de la Actividad Citotóxica (CC<sub>50</sub>)**

Para los ensayos de citotoxicidad las muestras se refirieron al laboratorio de Inmunovirología del departamento de Inmunología. Se utilizó el método de Mossman modificado<sup>40</sup> y se probaron las siguientes concentraciones de los compuestos puros: 31.25, 62.5, 125, 250 y 500 µg/mL. Este experimento se llevó a cabo por triplicado para cada compuesto. Se utilizó como control negativo células Vero sin exponer al compuesto puro. Se graficaron curvas de dosis respuesta de las diferentes concentraciones utilizadas. La CC<sub>50</sub> se determinó como la concentración del compuesto necesaria para reducir la viabilidad celular en un 50%, tomando como 100% de viabilidad celular el control negativo.

#### **2.2.3.2 Determinación de la Actividad Anti-herpética (CI<sub>50</sub>)**

La actividad anti-herpética se determinó mediante el ensayo de reducción de placas virales.<sup>32</sup> Las muestras se refirieron al laboratorio de Inmunovirología del departamento de Inmunología. Para los ensayos se utilizaron las siguientes concentraciones de los compuestos puros: 25, 50 y 100 µg/ mL. Se utilizaron para los ensayos controles de crecimiento celular, control negativo (Mock) y células Vero

infectadas y tratadas con ACV a una concentración de 0.5 µg/mL como control positivo. La  $CI_{50}$  se determinó como la concentración en la que se observó reducción del 50% de la formación de UFP comparado contra el 0% de reducción del control negativo, todos los ensayos se realizaron por triplicado.

### 2.2.3.3 Determinación del Índice de Selectividad

Se determinó el índice de selectividad con la siguiente formula

$$\text{Índice de selectividad} = \frac{CC_{50}}{CI_{50}}$$

### 2.2.4 Comprobación de Isomerización de 6-*epi*-riolozatriona a Riolozatriona

Se pesaron 15 mg de 6-*epi*-riolozatriona, se disolvieron en 1.5 mL de metanol anhidro, posteriormente se le agregaron 0.9 mL de metóxido de potasio en metanol. La mezcla se agito a temperatura ambiente por 3 hr. El mismo procedimiento se realizó para riolozatriona. La reacción fue monitoreada por CCF utilizando cromatofolios de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> en soporte de aluminio y se eluyeron con hexano/ acetato de etilo (6:4).

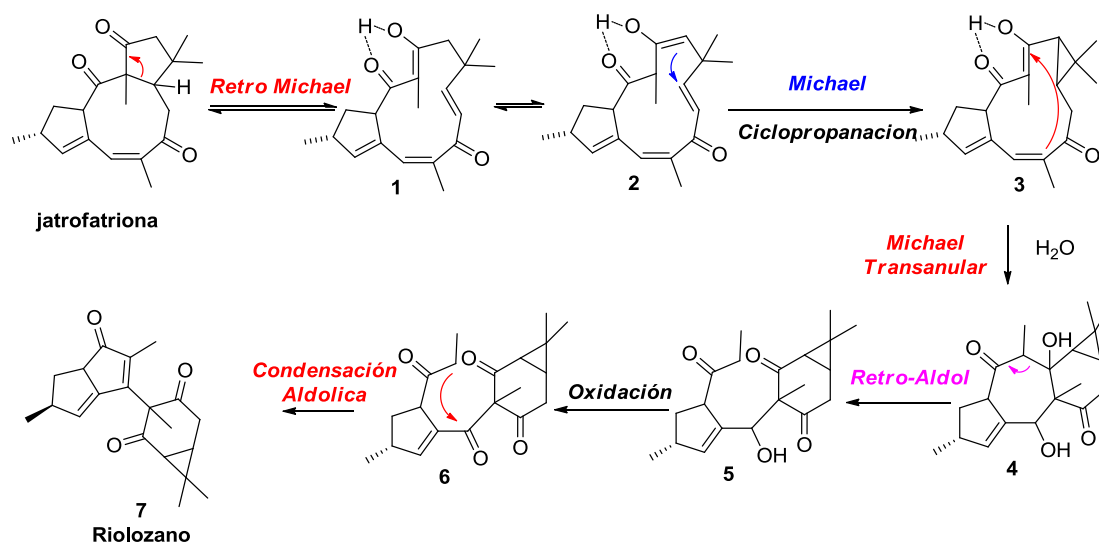
## **CAPÍTULO 3**

### **RESULTADOS**

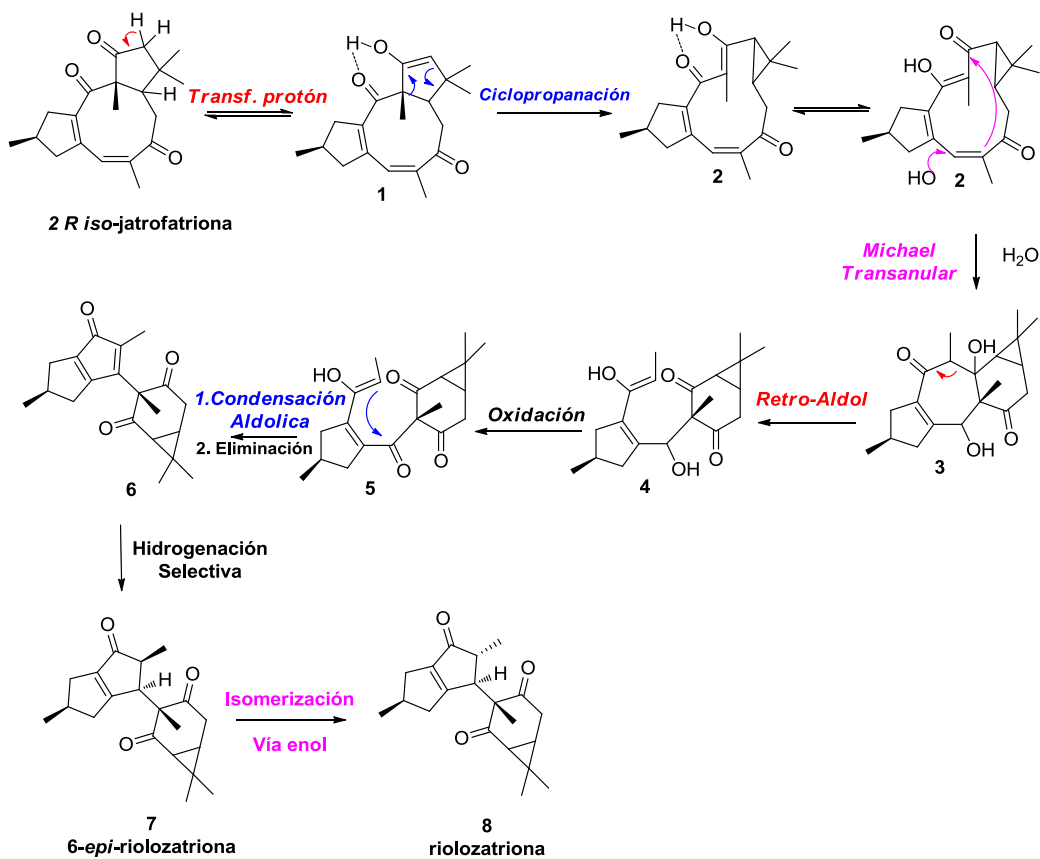
#### **3.1 Estudio Computacional de la Biogénesis de Rioloatriona**

##### **3.1.1 Planteamiento de Mecanismo de Reacción de la Biogénesis de Rioloatriona**

Se planteó el mecanismo I para la biogénesis de rioloatriona, a partir de jatrofatriona como precursor inicial, con la participación de otros diterpenos precursores de tipo latirano y premirsinano (Figura 11). Con base a los resultados teóricos y experimentales obtenidos se planteó el mecanismo II para la biogénesis de rioloatriona. En este último mecanismo se incluyeron otros precursores aislados de los extractos de la planta, *2R iso*-jatrofatriona como precursor inicial y *6-epi*-rioloatriona en un paso final del mecanismo II (Figura 12), con el cual se concluyó el objetivo 1.



**Figura 11.** Mecanismo I propuesto para la transformación de jatrofatriona a riolozatriona



**Figura 12.** Mecanismo II propuesto para la transformación de 2R iso-jatrofatriona a riolozatriona

### 3.1.2 Análisis Conformacional de Intermediarios de Reacción

Se realizó el análisis conformacional de los precursores e intermediarios involucrados en el mecanismo planteado en la Figura 12. Las condiciones de análisis se encuentran en la sección 2.2.1.2.

**Tabla I.** Análisis conformacional de jatrofatriona

Confórmero	E MMFF94	E M062x (H)	E M062x (kcal/mol)	E relativa (kcal/mol)
1	67.24	-1003.28	-629560.45	0
2	73.58	-1003.27	-629554.42	6.02

**Tabla II.** Análisis conformacional de 2*R* *iso*-jatrofatriona

Confórmero	E MMFF94	E M062x (H)	E M062x (kcal/mol)	E relativa (kcal/mol)
1	67.82	-1003.28	-629559.31	0.81
2	68.22	-1003.28	-629560.11	0
3	74.81	-1003.27	-629554.84	5.27
4	74.94	-1003.27	-629556.00	4.11
5	75.10	-1003.27	-629554.24	5.88
6	75.53	-1003.27	-629552.51	7.61
7	75.71	-1003.27	-629554.43	5.70
8	75.78	-1003.27	-629553.46	6.66
9	76.02	-1003.27	-629553.85	6.27
10	76.77	-1003.27	-629555.27	4.84

**Tabla III.** Análisis conformacional de riolozatriona

Confórmero	E MMFF94	E M062x (H)	E M062x (kcal/mol)	E relativa (kcal/mol)
1	70.20	-1003.28	-629559.18	2.84
2	70.48	-1003.28	-629559.41	2.61
3	70.74	-1003.28	-629561.30	0.72
4	71.34	-1003.28	-629557.80	4.21
5	71.59	-1003.28	-629561.12	0.90
6	72.19	-1003.28	-629557.60	4.41
7	73.02	-1003.29	-629561.83	0.19
8	73.83	-1003.29	-629562.02	0

**Tabla IV.** Análisis conformacional de 6-*epi*-riolozatriona

Confórmero	E MMFF94	E M062x (H)	E M062x (kcal/mol)	E relativa (kcal/mol)
1	77.05	-1003.28	-629558.15	0
2	77.32	-1003.27	-629556.47	1.68
3	77.54	-1003.27	-629554.11	4.04
4	77.71	-1003.28	-629557.13	1.02
5	78.06	-1003.27	-629554.45	3.69
6	78.07	-1003.28	-629557.78	0.37
7	78.09	-1003.27	-629554.78	3.37
8	78.33	-1003.27	-629553.45	4.69
9	78.67	-1003.27	-629554.04	4.10
10	78.68	-1003.27	-629552.54	5.61
11	79.27	-1003.27	-629552.63	5.51
12	80.08	-1003.28	-629556.47	1.68
13	80.67	-1003.28	-629557.13	1.02
14	82.32	-1003.28	-629556.84	1.30
15	83.50	-1003.28	-629556.13	2.02



### 3.1.3 Determinación de las Estructuras de los Estados de Transición

Se obtuvo el estado de transición de las reacciones presentadas en el mecanismo II de biogénesis de riolozatriona (Figura 12). Se realizó el cálculo de coordenada de reacción intrínseca para comprobar la naturaleza de los estados de transición. La metodología de análisis empleada se encuentra en la sección 2.2.1.3. En la Tabla V se muestran los resultados.

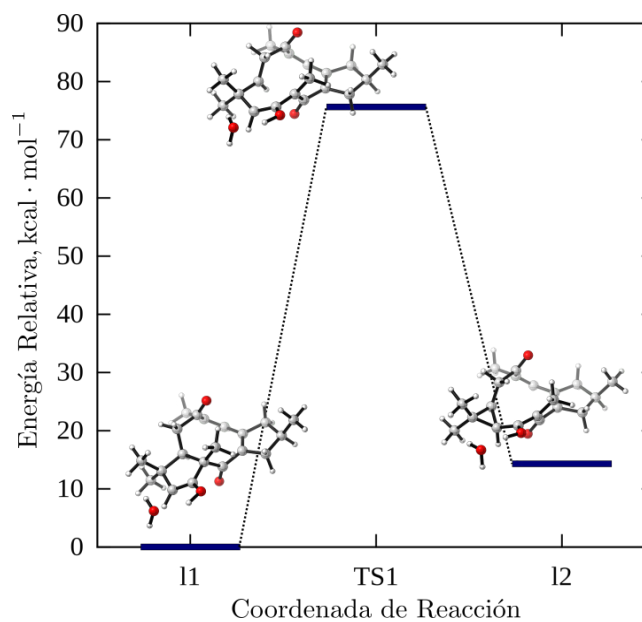
**Tabla V.** Energía de mínimos y estados de transición de mecanismo de transformación de *2R iso-jatrofatriona* a riolozatriona

	E PM6 (Kcal/mol)	TS (frec i)
<i>2R iso-jatrofatriona</i>	-126.88	
I1	-122.34	
TS1	-46.66	-365.23
I2	-108.02	
I2OH	-156.47	
TS2	-144.73	-429.47
I3	-165.71	
I3H	-106.34	
TS3	-70.51	-1162.72
I4	-112.98	
TS4 (OXIDACION)		
I5	-38.96	
TS5	-30.36	-555.11
I6	-95.61	
TS6(HIDROGENACION)		
I7	-110.46	
TS7	-42.98	-2094.88
I8	-88.12	
TS8	-45.72	-2040.78
I9	-115.59	

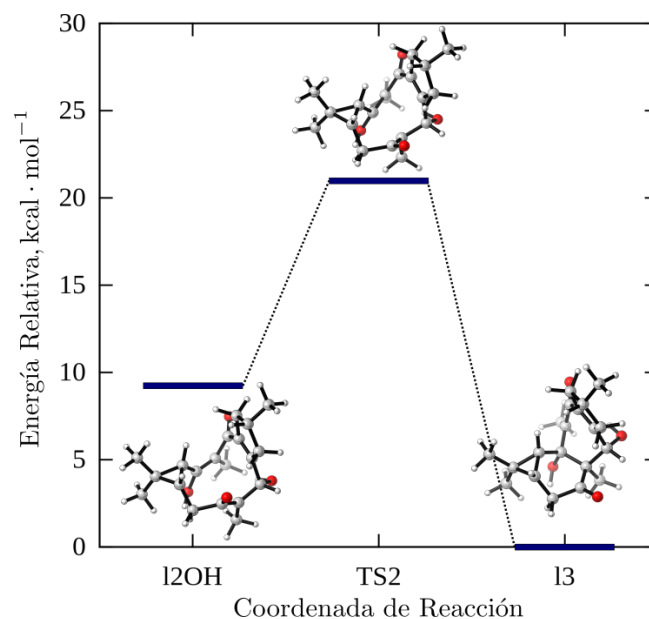
I= Intermediario, TS= Estado de transición, frec i= frecuencia imaginaria

### 3.1.4 Construcción de los Diagramas de Energía para el Mecanismo II.

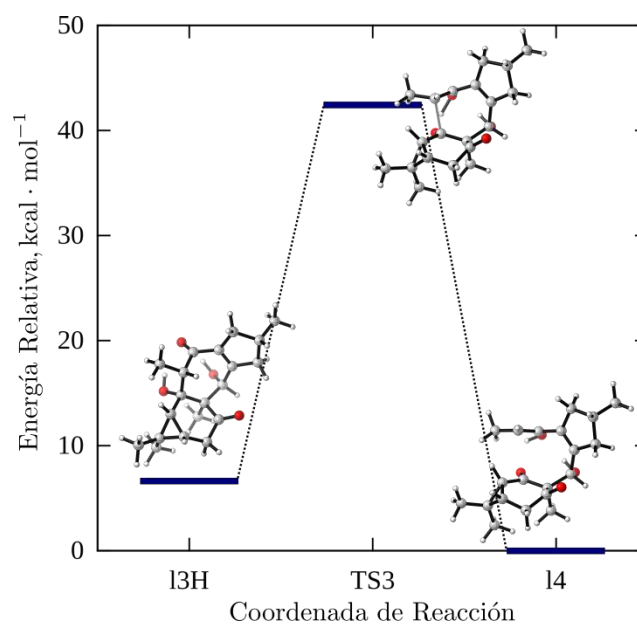
Se construyeron los diagramas de energía de las reacciones del mecanismo propuesto de biogénesis de riolozatriona (Figura 12) con base a la energía relativa de cada reacción (Figuras 13 a 17).



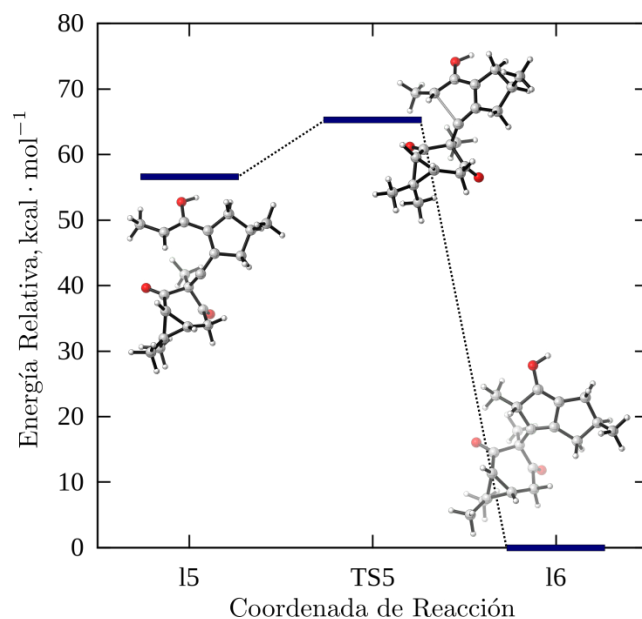
**Figura 13.** Diagrama de energía para la reacción de formación del ciclopropano.



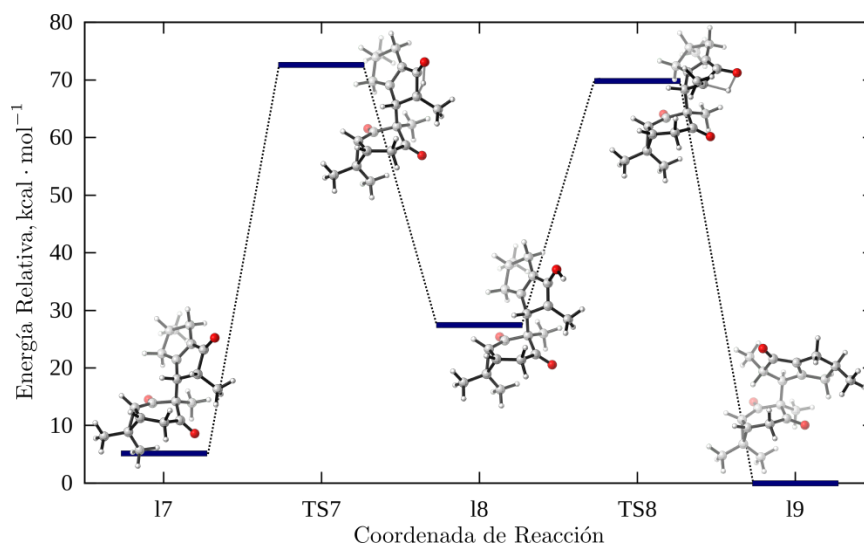
**Figura 14.** Diagrama de energía para la reacción de Michael transanular.



**Figura 15.** Diagrama de energía para la reacción de retro-aldol



**Figura 16.** Diagrama de energía para la reacción de condensación aldólica.



**Figura 17.** Diagrama de energía para la reacción de isomerización de 6-*epi*-riolozatriona.

### 3.2 Aislamiento de los Precursores de Rioloatriona

#### 3.2.1 Separación Cromatográfica

La separación cromatográfica se realizó de acuerdo a lo especificado en la sección 2.2.2.3. Como resultado se hizo la caracterización de 6 diterpenos, tres compuestos nuevos, uno con esqueleto de riolozano al cual se denominó 6-*epi*-rioloatriona y dos con esqueleto de tipo 9-13 ciclojatrofano obtenidos como una mezcla de C-2 epímeros, los cuales se denominaron como 2*S* y 2*R iso*-jatrofatriona. Por último, tres diterpenos ya reportados en la literatura (jatrofatriona, citlaltatriona, rioloatriona). Se muestra el porcentaje de recuperación de los compuestos calculados por cada 450 g de raíz molida y seca (Tabla VI).

**Tabla VI.** Porcentajes de recuperación de los diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*

Compuesto	% Recuperación
Jatrofatriona	0.014
Citlaltatriona	0.013
Rioloatriona	0.07
6- <i>epi</i> -rioloatriona	0.05
Mezcla C-2 epímeros de <i>iso</i> -jatrofatriona	0.0017

### 3.2.2 Análisis de la Separación Cromatográfica

#### 3.2.2.1 Análisis de la Separación Cromatográfica por CCF

Los compuestos obtenidos se analizaron bajo las condiciones descritas en 2.2.2.4.1, los resultados del cálculo del factor de retención (Tabla VII) son:

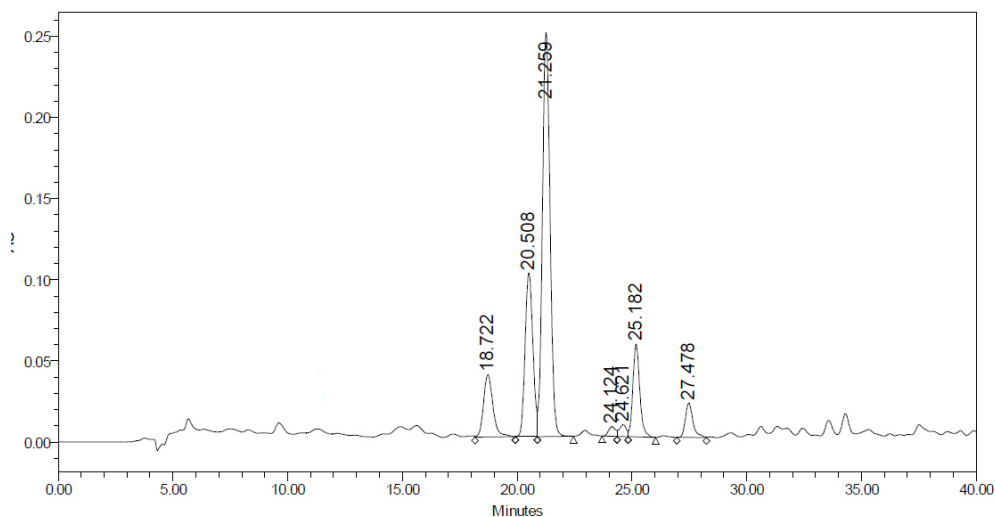
**Tabla VII.** Factor de retención calculado de los diterpenoides obtenidos de

*Jatropha dioica*

Compuesto	Rf	Rf
	Hexano/AOEt (6:4)	Diclorometano/hexano (9:1)
Jatrofatriona	0.66	0.24
Citlaltatriona	0.51	0.11
Rioloatriona	0.48	0.05
6- <i>epi</i> -rioloatriona	0.31	0.04
Mezcla C-2 epímeros de <i>iso</i> -jatrofatriona	0.66	0.34

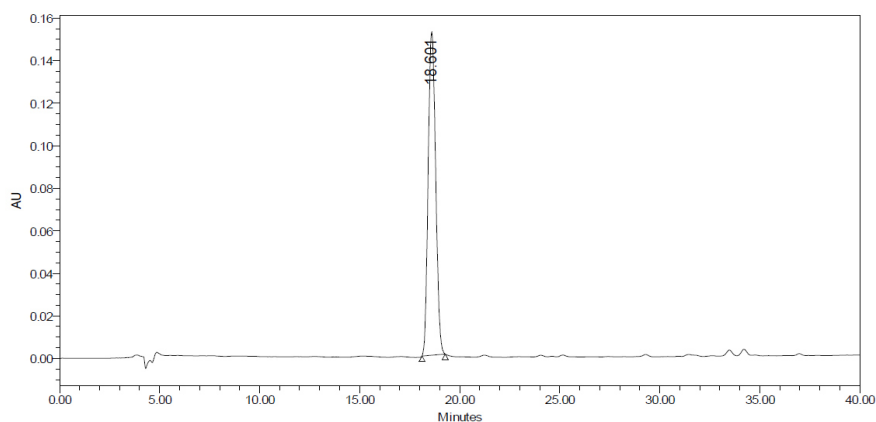
#### 3.2.2.2 Análisis de la Separación Cromatográfica por CLAR

Se desarrollo un método para el análisis de los extractos y de los compuestos puros por CLAR bajo las condiciones especificadas en la sección 2.2.2.4.2. A continuación se muestra el cromatograma del extracto de diclorometano de la raíz de *J. dioica* correspondiente a la colecta del mes de Junio del 2016.

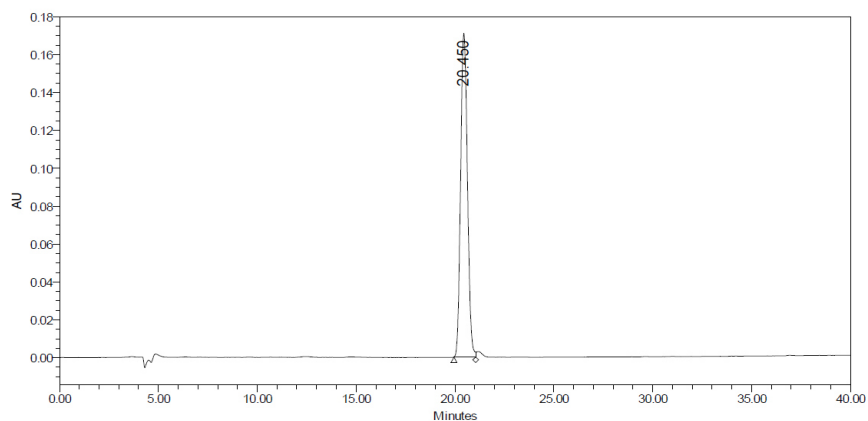


**Figura 18.** Cromatograma del extracto de diclorometano de la raíz de *J. dioica* (Junio 2016)

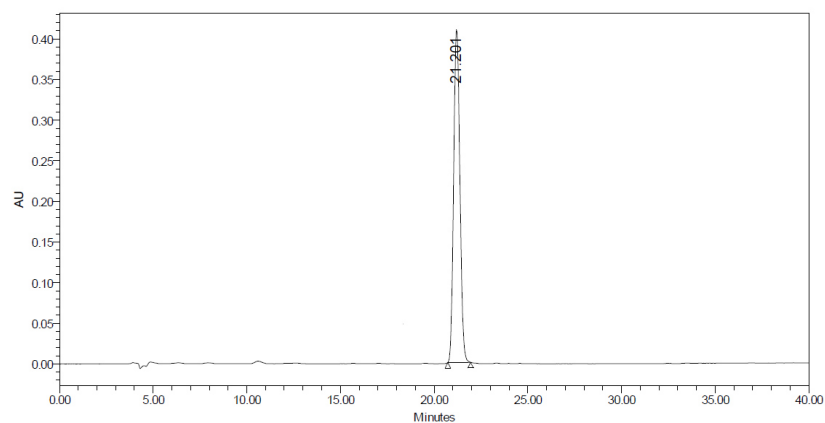
Se analizaron los diterpenoides por CLAR y se determinaron los tiempos de retención; 18.722 minutos para citlalitriona, 20.508 minutos para 6-*epi*-riolozatriona, 21.259 minutos para riolozatriona, 24.124 minutos para 2*R* *iso*-jatrofatriona, 24.621 minutos para 2*S* *iso*-jatrofatriona y 25.182 para jatrofatriona, a continuación se muestran los cromatogramas correspondientes (Figuras 19 a 23).



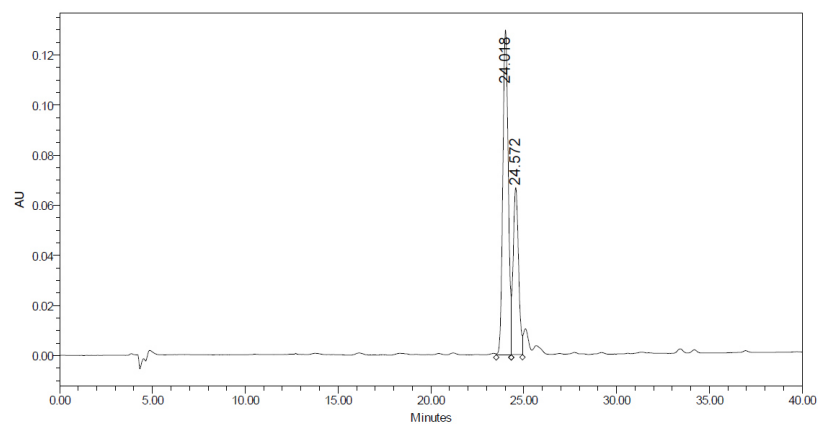
**Figura 19.** Cromatograma de citlalitriona obtenido por CLAR



**Figura 20.** Cromatograma de 6-*epi*-riolozatriona obtenido por CLAR

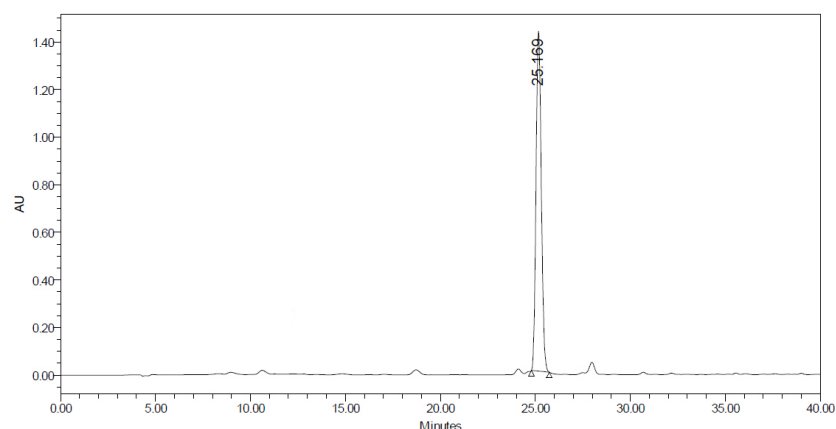


**Figura 21.** Cromatograma de riolozatriona obtenido por CLAR



**Figura 22.** Cromatograma de la mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona obtenido por CLAR





**Figura 23.** Cromatograma de jatrophiona obtenido por CLAR

### 3.2.3 Caracterización Estructural

Para la caracterización estructural de cada compuesto obtenido se hizo la determinación del punto de fusión de los compuestos sólidos y se determinaron los datos espectroscópicos de UV-Vis, RMN y EM.

#### 3.2.3.1 Determinación del Punto de Fusión

Se determinaron los puntos de fusión de los compuestos sólidos de acuerdo a la metodología presentada en la sección 2.2.2.5.1. La Tabla VIII muestra los resultados.

**Tabla VIII.** Puntos de fusión de los diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*

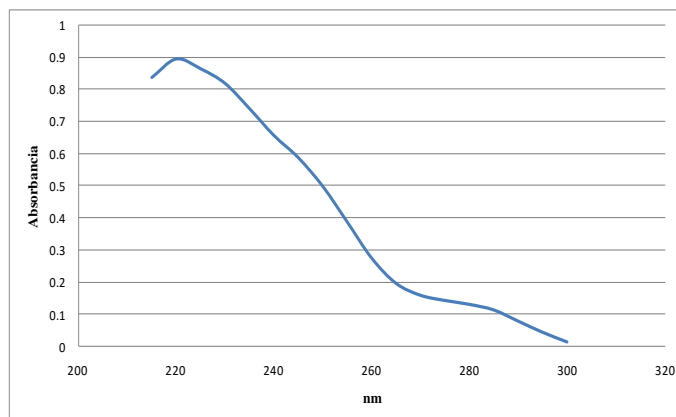
Compuesto	Punto de fusión (°C)
Jatrofatriona	147-149
Citlaltatriona	196-198
Riolozatriona	116-118
6- <i>epi</i> -riolozatriona	126-128

### 3.2.3.2 Espectroscopia Ultravioleta Visible

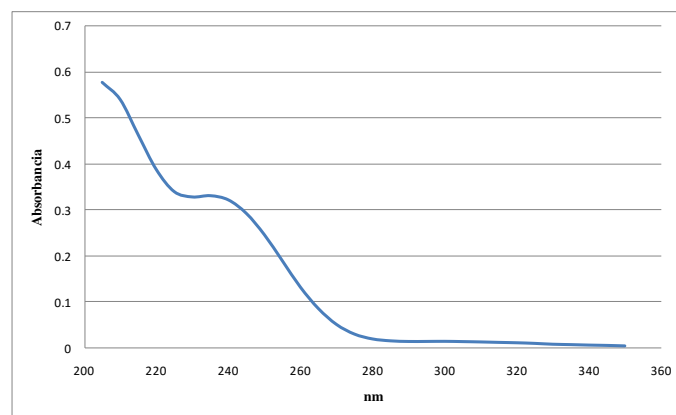
Se determinaron los máximos de absorción de jatrofatriona, citlaltatriona, riolozatriona, 6-*epi*-riolozatriona y de la mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona por espectroscopia ultravioleta visible como se indica en la sección 2.2.2.5.2, en la Tabla IX se muestran los valores de  $\lambda$  máx y las Figuras 24-28 muestran los espectros correspondientes.

**Tabla IX.** Máximos de absorción en Espectroscopia Ultravioleta-visible de diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*

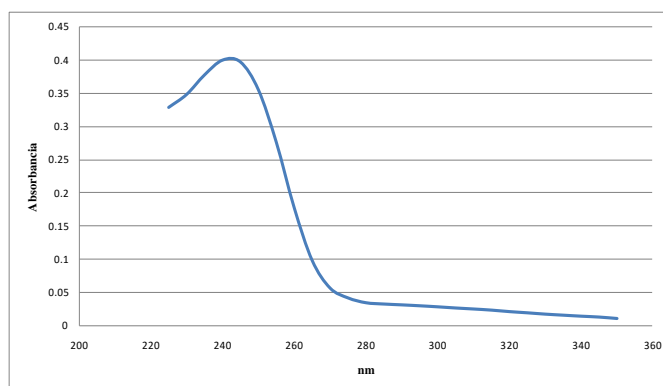
Compuesto	$\lambda$ máx(nm)
Jatrofatriona	225.7
Citlaltatriona	235.0
Riolozatriona	245.7
6- <i>epi</i> -riolozatriona	243.3
Mezcla C-2 epímeros de <i>Iso</i> -jatrofatriona	225.0



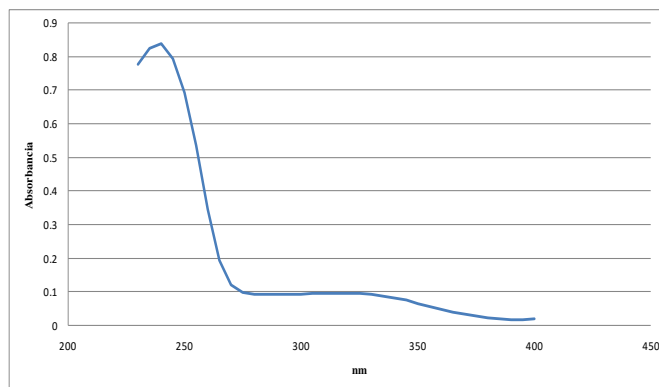
**Figura 24.** Espectro de absorción Ultravioleta-visible de jatrofatriona en metanol



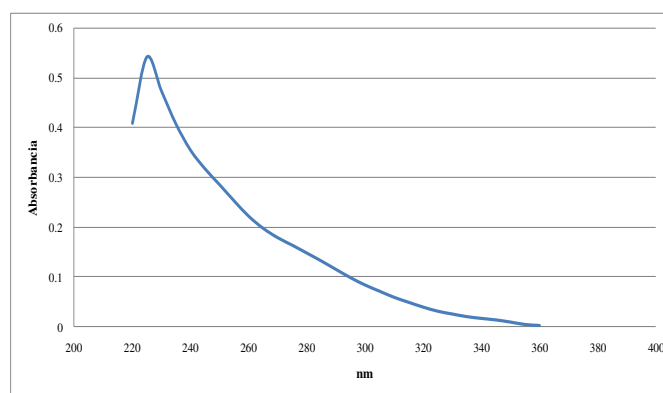
**Figura 25.** Espectro de absorción Ultravioleta-visible de citlalitriona en metanol



**Figura 26.** Espectro de absorción Ultravioleta-visible de riolozatriona en metanol



**Figura 27.** Espectro de absorción Ultravioleta-visible de 6-*epi*-riolozatriona en metanol



**Figura 28.** Espectro de absorción Ultravioleta-visible de la mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona en metanol

Se calcularon los coeficientes de absortividad molar de jatrofatriona:  $\lambda$  máx 225 nm ( $\epsilon$  5427.74  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ) y 280 nm ( $\epsilon$  828.49  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ), citlalitriona  $\lambda$  máx 205 nm ( $\epsilon$  3827.81  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ) y 235 nm ( $\epsilon$  2192.05  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ), riolozatriona:  $\lambda$  máx 245 nm ( $\epsilon$  2495.86  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ), 6-*epi*-riolozatriona  $\lambda$  máx 243 nm ( $\epsilon$  5283.01  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ) y la mezcla C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona  $\lambda$  máx 225 nm ( $\epsilon$  3406.33  $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ).

### 3.2.3.3 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

Los datos espectroscópicos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN de jatrofatriona, citlalitriona, riolozatriona, 6-*epi*-riolozatriona, 2*R* y 2*S iso*-jatrofatriona se muestran en las tablas X a XIII. Las condiciones de análisis se describen en la sección 2.2.2.5.3.

**Tabla X.** Datos de RMN de jatrofatriona y citlalitriona en  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )

Posición		Jatrofatriona		Citlalitriona		
		$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> en Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (tipo)	$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> en Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (tipo)	HMBC <sup>a</sup>
1	$\alpha$	1.45, ddd (13.0, 5.3, 5.1)	38.0 (CH <sub>2</sub> )	1.35, d broad (13.7)	34.9 (CH <sub>2</sub> )	2, 3, 4, 16
	$\beta$	2.30, ddd (13.0, 9.0, 9.2)		1.95, dt (13.5, 9.2)		2, 14, 15, 16
2		2.83-2.86, m	39.8 (CH)	2.36 dq (8.0, 7.5)	33.8 (CH)	3, 4, 15, 16
3		5.89, s	144.5 (CH)	3.30, s	72.9 (CH)	2, 5
4			138.4 (C)		67.6 (C)	
5		6.15, s	128.1 (CH)	5.51, s	128.3 (CH)	3, 4, 7, 15, 17
6			135.9 (C)		145.5 (C)	
7			210.6 (C)		208.4 (C)	
8	$\alpha$	2.90, dd (13.0, 2.2)	38.3 (CH <sub>2</sub> )	2.95, dd (12.7,1.5)	38.0 (CH <sub>2</sub> )	7, 9 10, 13
	$\beta$	2.52, dd (13.0, 13.0)		2.58, dd (13.2, 12.8)		6, 7, 9
9		2.43 dd (13.0, 2.1)	51.3 (CH)	2.50, dd (13.3, 1.5)	52.8 (CH)	10, 13, 18, 19, 20
10			37.4 (C)		37.6 (C)	
11	$\alpha$	2.46 dd( 17.8)	55.5 (CH <sub>2</sub> )	2.42, d (12.1)	55.5, CH <sub>2</sub>	9, 10, 12, 19
	$\beta$	2.32 dd (16.7)		2.42, d (12.1)		
12			218.0 (C)		217.2 (C)	
13			64.5 (C)		65.7 (C)	
14			215.7 (C)		215.5 (C)	
15		4.12, ddq (9.0, 5.2, 1.2)	51.0 (CH)	3.65, d (9.2)	46.6 (CH)	2, 3, 13, 14
16		1.12, d (7.0)	20.5 (CH <sub>3</sub> )	1.16, d ( 7.5)	16.1 (CH <sub>3</sub> )	1, 2, 3
17		1.95, s	20.7 (CH <sub>3</sub> )	1.95, d (1.5)	20.5 (CH <sub>3</sub> )	5, 6, 7
18		1.24, s	27.9 (CH <sub>3</sub> )	1.28, s	28.3 (CH <sub>3</sub> )	9, 10, 11, 19
19		0.92, s	23.6 (CH <sub>3</sub> )	0.97, s	23.7 (CH <sub>3</sub> )	9, 10, 18
20		1.48, s	14.0 (CH <sub>3</sub> )	1.44, s	14.6 (CH <sub>3</sub> )	9, 13

<sup>a</sup>  $^2\text{J}$  y  $^3\text{J}$  acoplamiento a 2 y 3 enlaces



**Tabla XI.** Datos de RMN de riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona en CDCl<sub>3</sub> a 750 MHz(<sup>1</sup>H) y 187.5 MHz (<sup>13</sup>C)

Riolozatriona				6- <i>epi</i> -riolozatriona			
Posición	δ <sub>H</sub> (J en Hz)	δ <sub>C</sub> (tipo)	HMBC <sup>a</sup>	δ <sub>H</sub> (J en Hz)	δ <sub>C</sub> (tipo)	HMBC <sup>a</sup>	
1	α 2.48, dddd (-18.7, 8.3, 2.0, 1.9, 1.9)	40.4, CH <sub>2</sub>	4, 8, 19	2.47, dd ancho (-18.4, 8)	40.3, CH <sub>2</sub>	8, 4	
	β 2.31, dddd (-18.7, 6.6, , 2.3, 2.2, 1.5)			2.17, dd ancho (-18.4, 6.2)		19, 4	
2	2.75, ddddc (8.3, 6.6, 8.5, 6.7, 6.9)	38.0, CH	3, 19	2.76, ddcdd (8.3, 8.0, 6.9, 6.5, 6.2)	37.8, CH	19	
3	α 2.49, dddd (-16.0, 1.9, 1.85, 1.5, 0.85)	32.5, CH <sub>2</sub>	4, 8, 19	2.54, ddcdd (-15.9, 8.3, 1.7, 1.5, 1.3)	32.7, CH <sub>2</sub>	8, 4	
	β 1.96, dddd (-16.0, 6.7, 2.3, 2.3, 2.0)			2.00, dddd (-15.9, 6.5, 2.2, 2.2, 2.1)		19, 4	
4		149.6, C			149.3, C		
5		203.6, C			203.3, C		
6	2.45, cd (7.0, 0.6)	47.9, CH	4, 5, 8, 20	2.92, c (7.7)	50.3, CH	20, 14, 9, 7, 5, 4	
7	3.12, dq (3.6, 0.5)	52.5, CH	19, 8, 18	4.22, s ancho	45.6, CH	4	
8		181.5, C			180.6, C		
9		65.5, C			68.6, C		
10		206.9, C			205.3, C		
11	1.88, d (7.65)	33.1, CH	10, 13, 15, 16, 17	1.86, d (7.8)	33.1, CH	16, 15, 13, 10	
12	1.61, ddd (7.7, 7.65, 0.8)	22.7, CH	10, 11, 13, 14, 16	1.60, t (8.0)	21.8, CH	16, 14	
13	α 2.89, AB/dd (-18.3, 0.8)	35.8, CH <sub>2</sub>	5, 12, 15	3.12, dd (-16.9, 8.4)	36.7, CH <sub>2</sub>	15,14, 12	
	β 2.88, AB/dd (-18.0, 7.7)			2.93, d (-16.9)		15,14, 12	
14		207.2, C			206.8, C		
15		26.2, C			26.3, C		
16	1.23, s	28.3, CH <sub>3</sub>	11, 12, 15, 17	1.23, s	28.4, CH <sub>3</sub>	17, 15, 12, 11	
17	0.85, s	16.7, CH <sub>3</sub>	11, 12, 15, 16	0.80, s	16.4, CH <sub>3</sub>	16, 15, 11	
18	1.08, s	12.4, CH <sub>3</sub>	7, 9, 10, 14	1.02, s	10.7, CH <sub>3</sub>	10, 9, 7	
19	1.15,d (6.8)	21.5, CH <sub>3</sub>	1, 2, 3	1.16, d (6.9)	21.5, CH <sub>3</sub>	3, 2, 1	
20	1.16,d (7.5)	17.6, CH <sub>3</sub>	5, 7, 6	1.07,d (7.7)	11.8, CH <sub>3</sub>	7, 6, 5	

<sup>a</sup>2 y <sup>3</sup>J acoplamiento a 2 y 3 enlaces

**Tabla XII.** Datos de RMN de riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona en Metanol-*d*4 a 400MHz ( $^1\text{H}$ ) y 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )

Riolozatriona				6- <i>epi</i> -riolozatriona			
Posición		$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$ tipo	HMBC	$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$ tipo	HMBC
1	$\alpha$	2.57, dddddd (-18.7, 8.3, 2.7, 1.8, 1.3)	41.5, CH <sub>2</sub>	4, 8, 19	2.60, dddddd (-18.5, 7.1, 2.3, 2.3, 1.2)	41.6, CH <sub>2</sub>	4, 8, 19
	$\beta$	2.24, dddddd (-18.7, 6.5, 2.2, 2.1, 2.0)			2.11, dddddd (-18.5, 6.3, 3.8, 2.1, 1.2)		
2		2.78, ddcd (8.5, 8.3, 7.1, 6.5, 6.5)	39.1, CH	3, 19	2.79, ddcd (8.2, 7.1, 6.9, 6.3, 6.2)	39.3, CH	19
3	$\alpha$	2.47, dddddd (-15.9, 8.5, 3.0, 2.9, 1.3)	33.6, CH <sub>2</sub>	4, 8, 19	2.52, dddddd (-15.8, 8.2, 2.7, 2.0, 1.2)	33.5, CH <sub>2</sub>	8, 4
	$\beta$	1.92, dddddd (-15.9, 6.5, 2.3, 2.2, 2.1)			1.94, dddddd (-15.8, 6.2, 2.2, 2.1, 2.0)		
4			149.9, C			150.3, C	
5			206.4, C			206.3, C	
6		2.34, cd (7.5, 1.9)	51.8, CH	4, 5, 8, 20	3.05, cd (7.6, 6.1)	49.6, CH	20, 14, 9, 7, 5, 4, 8
7		3.39, qd ancho (2.1, 1.9)	46.9, CH	19, 8, 18	4.44, dq ancho (6.1, 2.0)	52.9, CH	4
8			183.9, C			184.7, C	
9			70.2, C			67.3, C	
10			207.3, C			208.8, C	
11		1.95, d (7.9)	34.5, CH	10, 13, 15, 16, 17	1.97, d (7.9)	34.1, CH	16, 15, 13, 10
12		1.72, td (7.9, 1.1)	23.3, CH	10, 11, 13, 14, 16	1.71, dd (8.3, 7.9)	23.7, CH	16, 14
13	$\alpha$	2.84, dd (-18.5, 1.1)	37.9, CH <sub>2</sub>	5, 12, 15	3.36, dd (-17.0, 8.3)	36.7, CH <sub>2</sub>	15, 14, 12
	$\beta$	3.05, dd (-18.5, 7.9)			2.85, d (-17.0)		
14			209.3, C			209.2, C	
15			27.3, C			27.1, C	
16		1.23, s	28.6, CH <sub>3</sub>	11, 12, 15, 17	1.22, s	28.4, CH <sub>3</sub>	17, 15, 12, 11
17		0.79, s	16.9, CH <sub>3</sub>	11, 12, 15, 16	0.74, s	17.2, CH <sub>3</sub>	16, 15, 11
18		0.97, s	10.9, CH <sub>3</sub>	7, 9, 10, 14	0.92, s	11.8, CH <sub>3</sub>	10, 9, 7
19		1.15, d (7.1)	22.0, CH <sub>3</sub>	1, 2, 3	1.15, d (6.9)	22.0, CH <sub>3</sub>	3, 2, 1
20		1.13, d (7.5)	12.1, CH <sub>3</sub>	5, 7, 6	0.99, d (7.7)	17.7, CH <sub>3</sub>	7, 6, 5

<sup>a2 y 3</sup> $J$  acoplamiento a 2 y 3 enlaces

**Tabla XIII.** Datos de RMN de 2*R* y 2*S* *iso*-jatrofatriona en CDCl<sub>3</sub> a 400 MHz (<sup>1</sup>H) y 100MHz (<sup>13</sup>C)

2 <i>R</i> Iso-jatrofatriona					2 <i>S</i> Iso-jatrofatriona		
Posición		$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> in Hz)	$\delta_{\text{C}}$ tipo	HMBC	$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> in Hz)	$\delta_{\text{C}}$ tipo	HMBC
1	$\alpha$	2.710, ddq (15.9, 7.8, 2.5)	45.0, CH <sub>2</sub>	15	2.710, ddq (15.9, 7.8, 2.5)	45.0, CH <sub>2</sub>	15
	$\beta$	2.163-2.219, m			2.163-2.219, m		
2		2.395-2.464, m	32.7, CH	1, 3, 4	2.395-2.464, m	32.7, CH	1, 3, 4
3	$\alpha$	2.590, m	44.8, CH <sub>2</sub>	16	2.590, m	44.6, CH <sub>2</sub>	16
	$\beta$	2.060, m		16, 15	2.060, m		16, 15
4			141.7, C			141.7, C	
5		5.822, s	127.5, CH	17, 7	5.781, s	127.5, CH	17, 7
6			141.5, C			141.2, C	
7			208.6, C			208.7, C	
8	$\alpha$	2.814, dd (13.6, 2.6)	39.1, CH <sub>2</sub>	13, 10, 9, 7	2.794, dd (13.5, 2.6)	39.0, CH <sub>2</sub>	13, 10, 9, 7
	$\beta$	2.514, d (13.6)		10, 9, 7, 6	2.374, d (13.5)		10, 9, 7, 6
9		2.625 dd (13.1, 2.6)	51.2, CH	10, 6	2.625 dd (13.1, 2.6)	51.1, CH	10, 6
10			37.2, C			37.2, C	
11	$\alpha$	2.566 d( 16.3)	55.6, CH <sub>2</sub>	19, 13, 10	2.566 d( 16.4)	55.4, CH <sub>2</sub>	19, 13, 10
	$\beta$	2.312 d (16.3)		19, 13, 12, 9	2.327 d (16.4)		19, 13, 12, 9
12			215.2, C			215.2, C	
13			64.4, C			64.1, C	
14			213.1, C			212.8, C	
15			138.2, C			137.9, C	
16		1.074, d (6.9)	21.5, CH <sub>3</sub>	3, 2, 1	1.029, d (6.8)	21.5, CH <sub>3</sub>	3, 2, 1
17		1.914, s	19.2, CH <sub>3</sub>	7, 6, 5	1.953, s	19.2, CH <sub>3</sub>	7, 6, 5
18		1.281, s	27.7, CH <sub>3</sub>	19, 11, 10, 9	1.253, s	27.7, CH <sub>3</sub>	19, 11, 10, 9
19		0886, s	23.6, CH <sub>3</sub>	18, 11, 10, 9	0858, s	23.6, CH <sub>3</sub>	18, 11, 10, 9
20		1.358, s	14.8, CH <sub>3</sub>	13, 9	1.347, s	14.6, CH <sub>3</sub>	13, 9

<sup>a2</sup> y <sup>3</sup>*J* acoplamiento a 2 y 3 enlaces

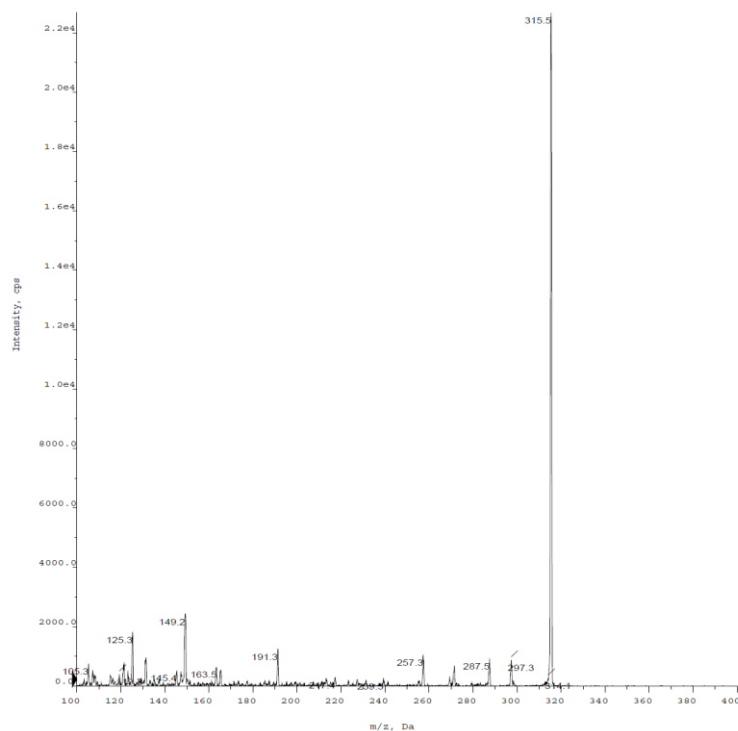
### 3.2.3.4 Espectrometría de Masas

El análisis por espectrometría de masas de los compuestos aislados se realizó de acuerdo a lo descrito en la sección 2.2.2.5.4, la Tabla XIV indica su relación  $m/z$   $[M]^+$  y los espectros de masas se muestran en las Figuras 29-34.

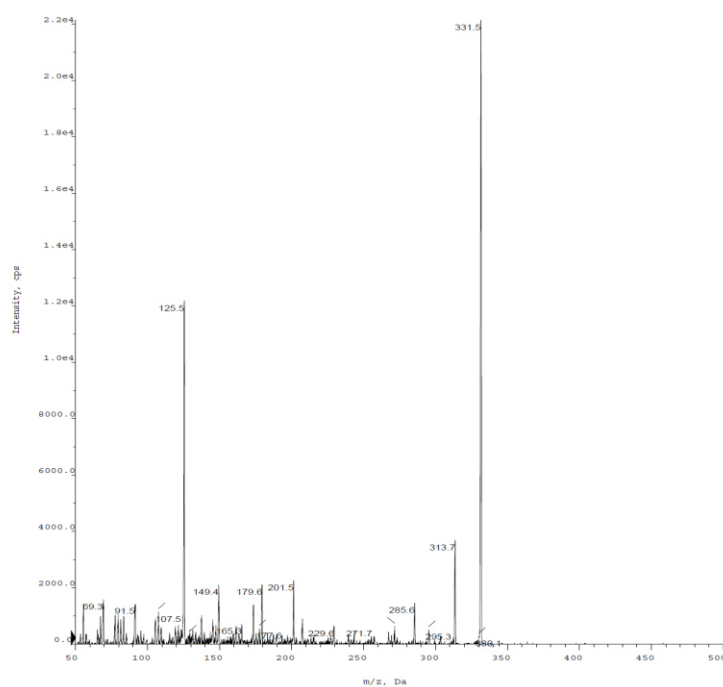
**Tabla XIV.** Relación masa-carga de diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*

Compuesto	Baja resolución	Alta resolución
Jatrofatriona	315.5	
Citlалitriona	331.5	
Rioloatriona	315.0	
6- <i>epi</i> -rioloatriona	315.0	315.1965
2 <i>R iso</i> -jatrofatriona	315.7	

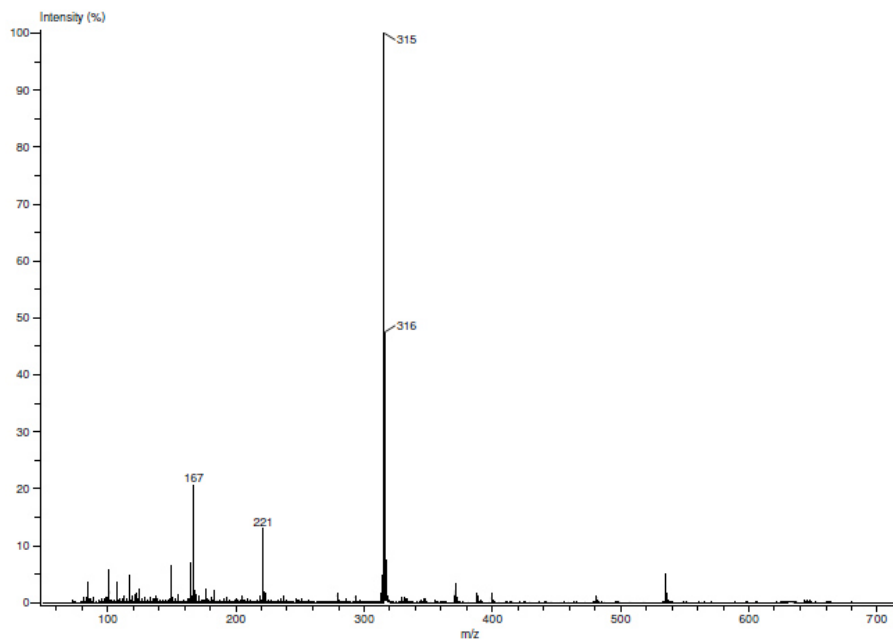




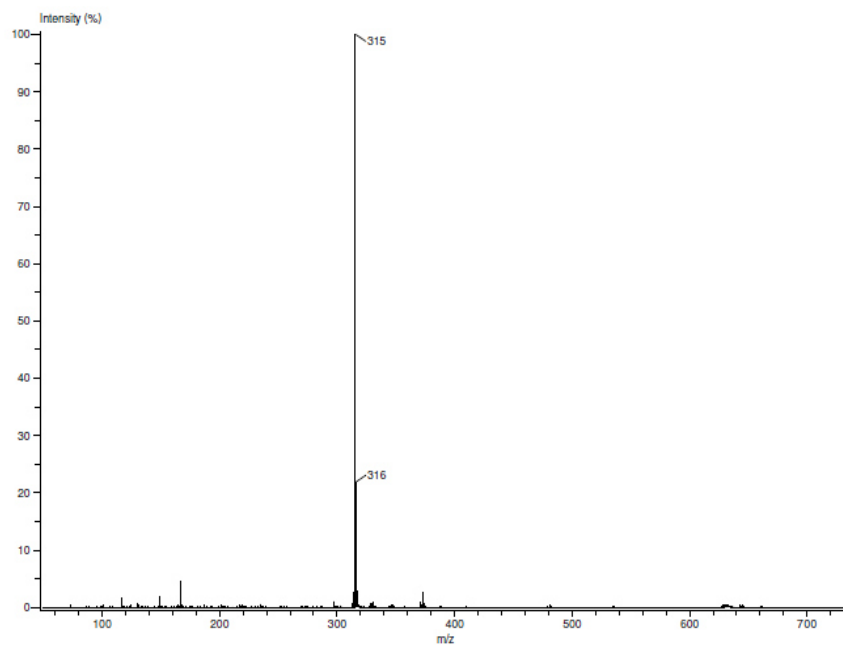
**Figura 29.** Espectro de masas de baja resolución de jatrofatorona



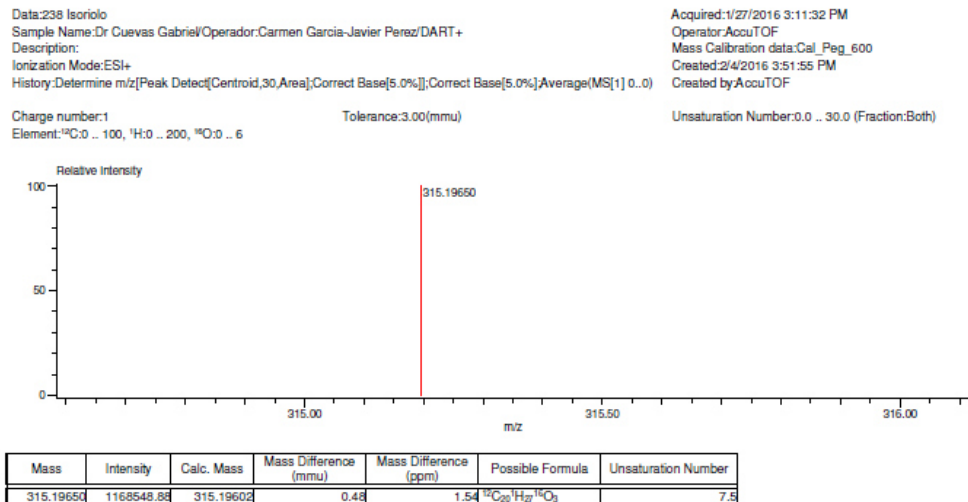
**Figura 30.** Espectro de masas de baja resolución de citlalitriona



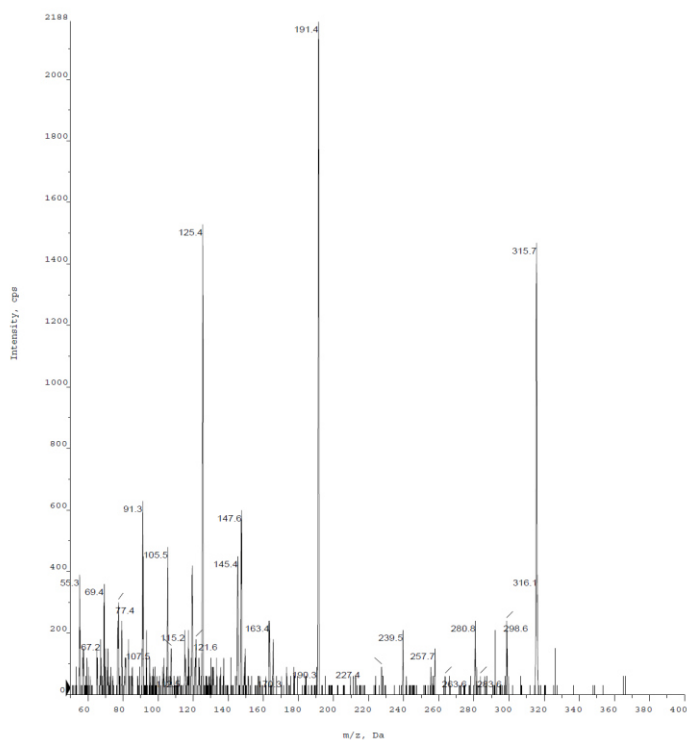
**Figura 31.** Espectro de masas de baja resolución de riolozatriona



**Figura 32.** Espectro de masas de baja resolución de 6-*epi*-riolozatriona



**Figura 33.** Espectro de masas de alta resolución de 6-*epi*-riolozatriona



**Figura 34.** Espectro de masas de baja resolución de la mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona

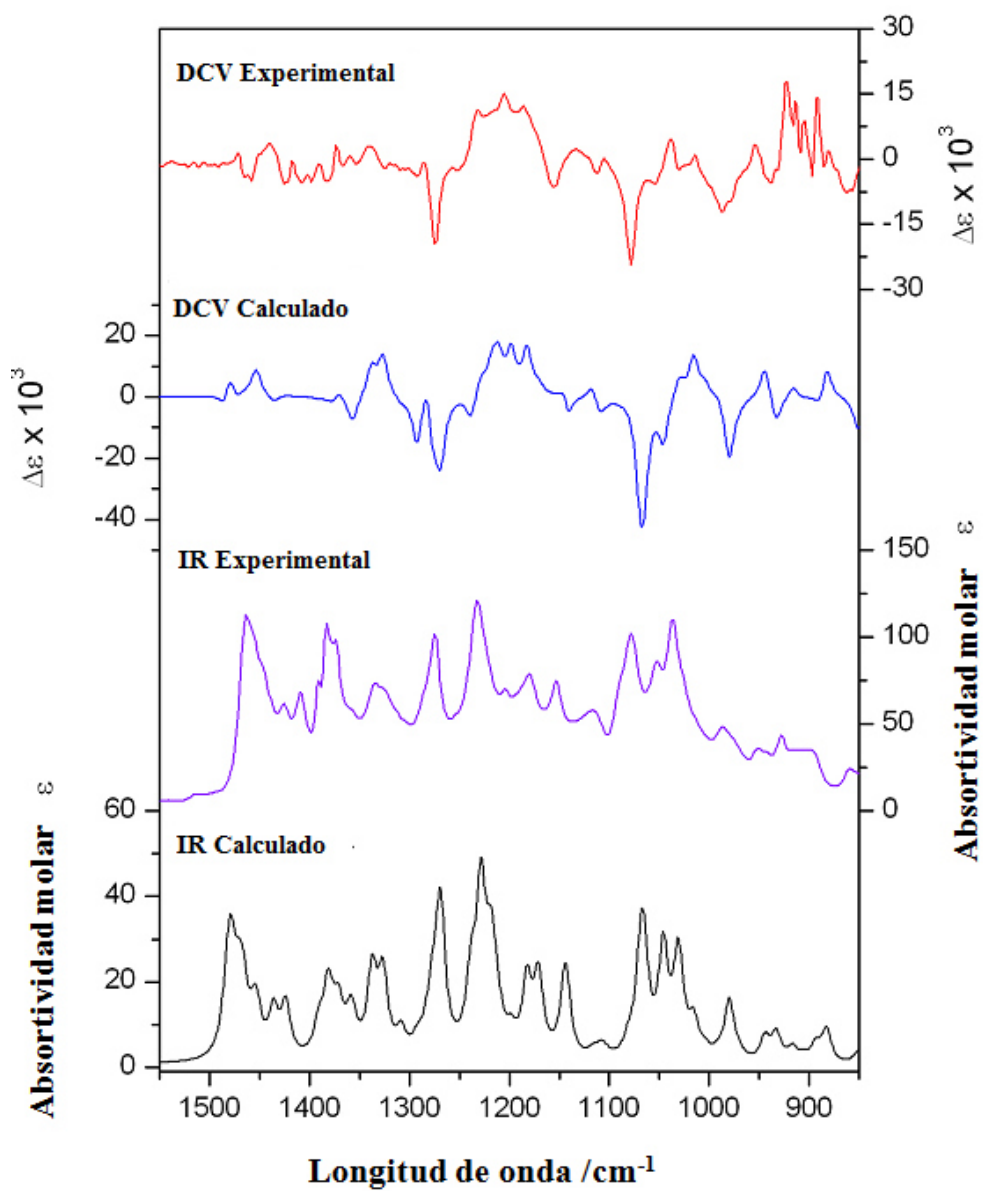
### **3.2.4 Determinación de la Configuración Absoluta de los Compuestos**

La determinación de la configuración absoluta de los compuestos obtenidos de forma pura se hizo a través de Dicroísmo Circular Vibracional y por análisis de Difracción de Rayos X.

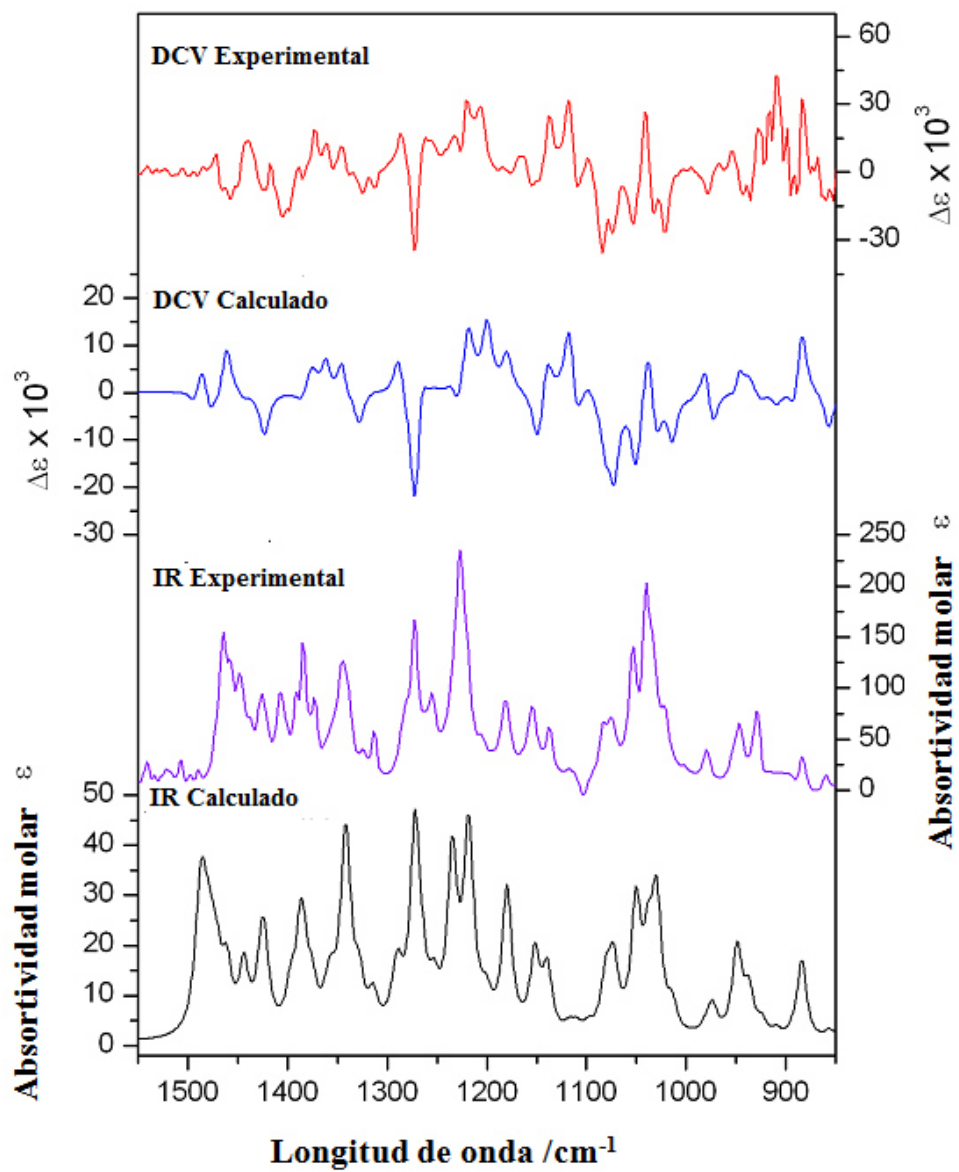
#### **3.2.4.1 Dicroísmo Circular Vibracional**

Los experimentos de Dicroísmo Circular Vibracional e Infrarrojo experimentales y calculados se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 2.2.2.6.1. Los tiempos de colección para las muestras con el disolvente fueron 21 horas para jatrofatriona, 5 horas para citlaltatriona, 19 horas para riolozatriona, 20 horas para 6-*epi*-riolozatriona. La configuración absoluta se determinó por comparación de los espectros experimentales y calculados. La comparación de cada compuesto se muestra en las Figuras 35-38.

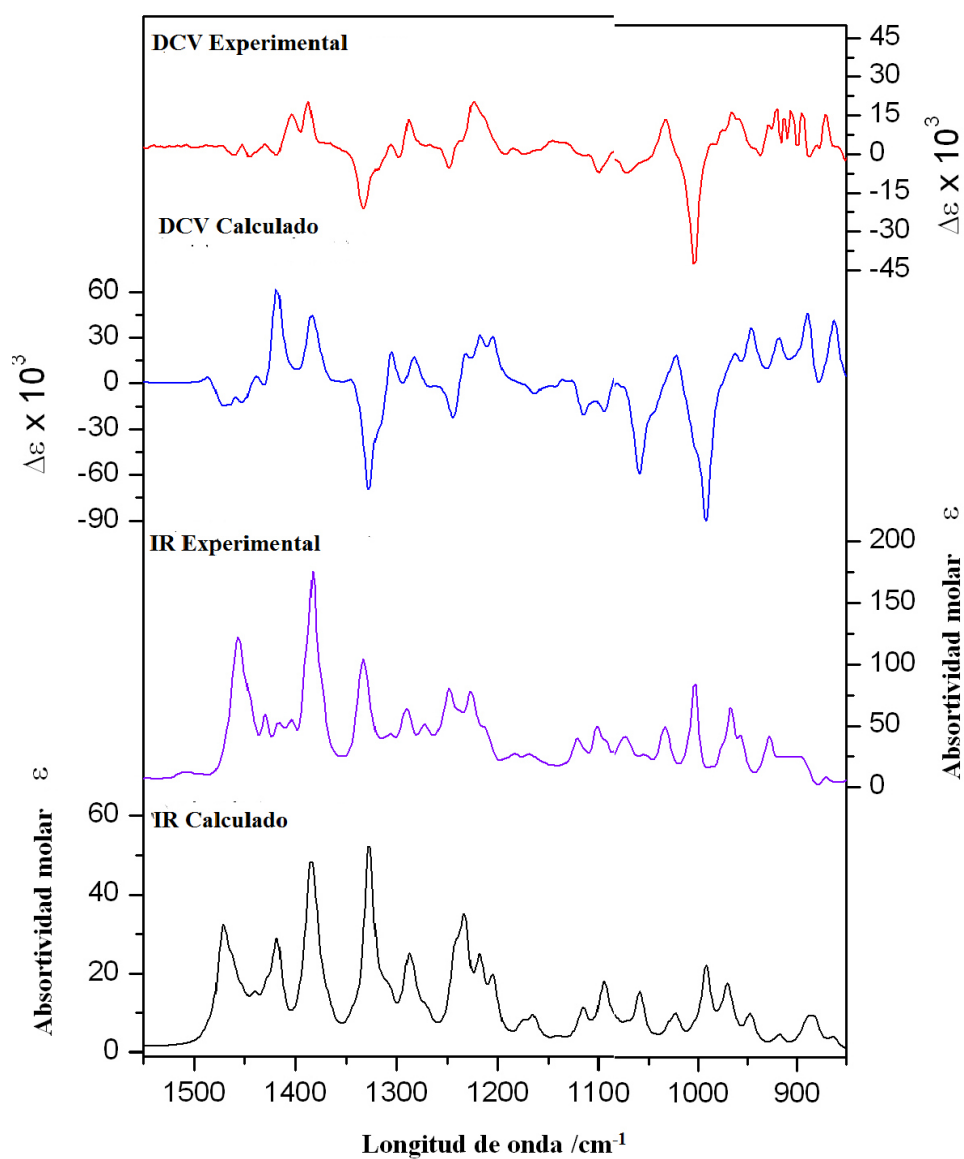




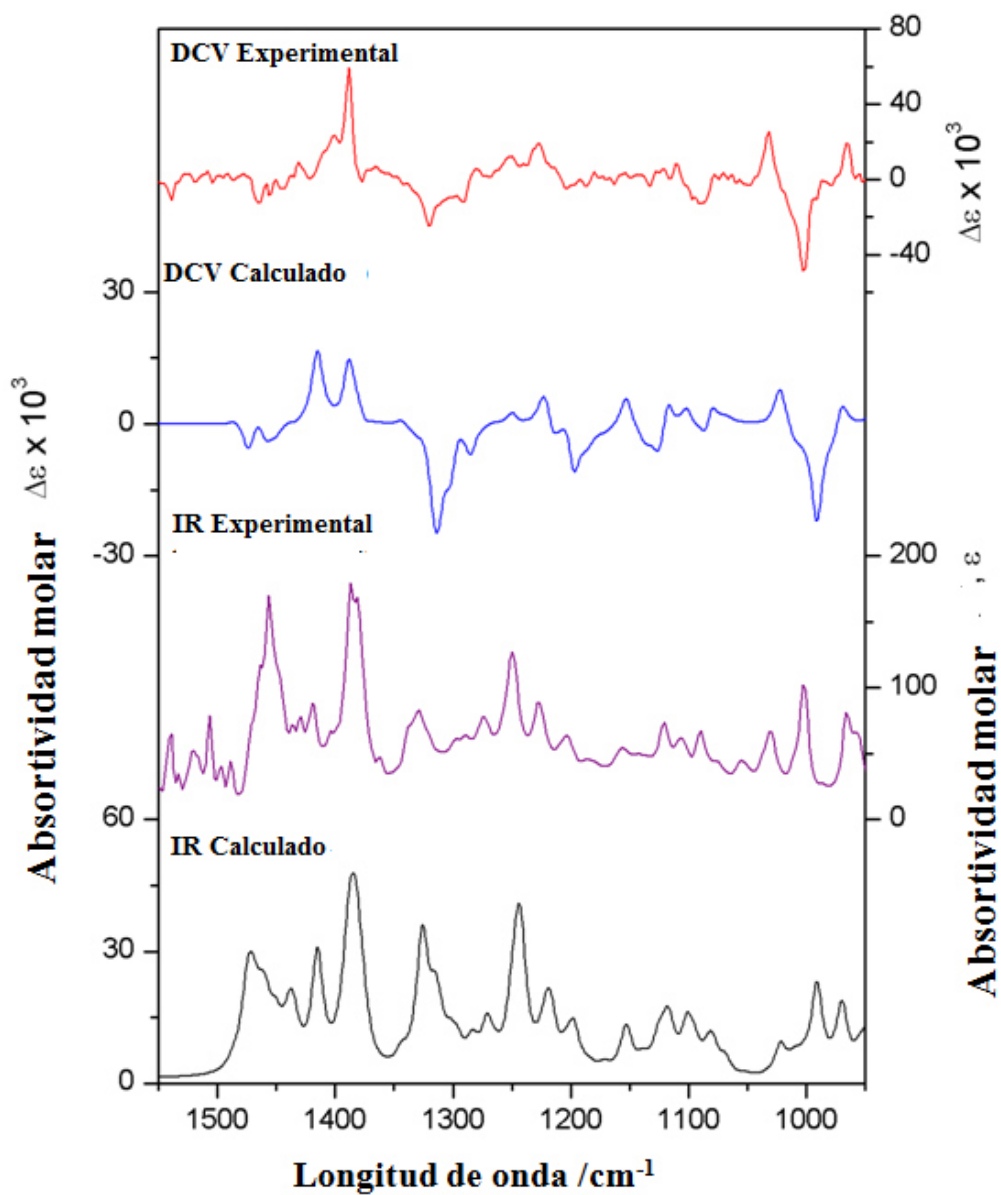
**Figura 35.** Espectro de DCV/ IR experimental y calculado para jatrofatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP



**Figura 36.** Espectro de DCV/ IR experimental y calculado para citralitrona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP



**Figura 37.** Espectro de DCV/ IR experimental y calculado para riolozatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP



**Figura 38.** Espectro de DCV/ IR experimental y calculado para 6-*epi*-riolozatriona a un nivel de teoría B3PW91/DGDZVP



El nivel de confianza calculado para la comparación de los espectros de DCV/IR, se muestra en la Tabla XV.

**Tabla XV.** Comparación de los espectros de DCV/IR de los diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*

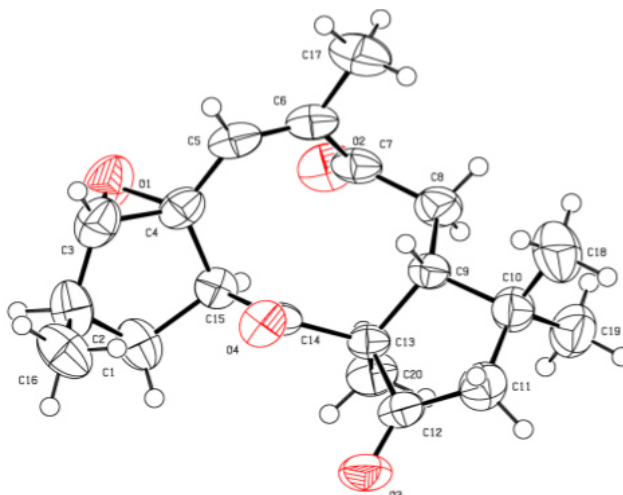
Compuesto	Método	anH <sup>a</sup>	S <sub>IR</sub> <sup>b</sup>	S <sub>E</sub> <sup>c</sup>	S <sub>E</sub> <sup>d</sup>	ESI <sup>e</sup>	C(%) <sup>f</sup>
jatrofatriona	B3PW91/DGDZVP	0.972	90.5	73.8	4.5	69.3	99
citlaltatriona	B3PW91/DGDZVP	0.976	91.8	80.1	6.8	73.3	99
riolozatriona	B3PW91/DGDZVP	0.971	92.2	75.9	6.5	69.4	99
6- <i>epi</i> -riolozatriona	B3PW91/DGDZVP	0.971	93.3	72.2	4.9	67.2	99

<sup>a</sup> Factor de frecuencia escalante. <sup>b</sup> Similaridad de espectros IR. <sup>c</sup> Similaridad de espectros DCV para el enantiómero correcto. <sup>d</sup> Similaridad de espectro DCV para el enantiómero incorrecto. <sup>e</sup> Índice de similaridad del enantiómero calculado como  $S_E - S_{E'}$ . <sup>f</sup> Nivel de confianza para la asignación estereoquímica.

### 3.2.4.2 Difracción de Rayos X

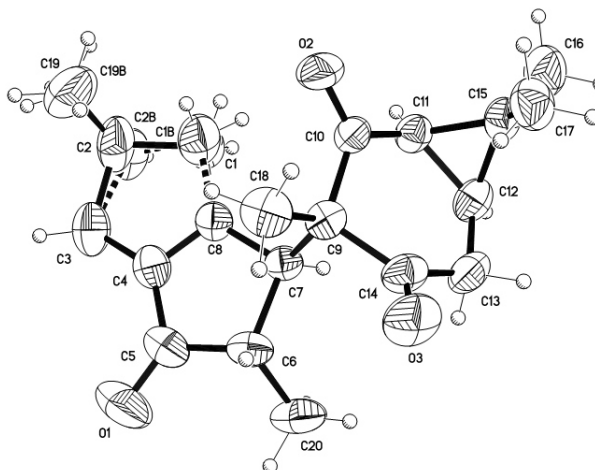
Los análisis de Difracción de Rayos X se realizaron solo para los compuestos que cristalizaron formando un monocristal difractable: citlaltatriona, riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona. Las condiciones de análisis se mencionan en la sección 2.2.2.6.2. Los datos del cristal de citlaltatriona son los siguientes, C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>,  $M = 330.41$ , ortorrómbico, grupo espacial P 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub>,  $a = 6.57050(10) \text{ \AA}$ ,  $b = 11.1729(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 25.1590(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 90^\circ$ , Volumen=1846.96(6) Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $D_{\text{cald}} = 1.188 \text{ mg/m}^3$ ,  $\lambda (\text{Cu K}\alpha) = 1.54178 \text{ \AA}$ , total de reflexiones 71131, reflexiones independientes 3927 [ $R(\text{int}) = 0.0384$ ]. El índice R final para  $I > 2\sigma(I)$ ,  $R_1 = 0.0369$ ,  $wR_2 = 0.0949$ , el índice  $R$  para todos los datos

$R_1 = 0.0404$ ,  $wR_2 = 0.0978$ , Parámetro Flack,  $x = 0.03(4)$ . La Figura 39 muestra el acomodo 3D de la molécula en el cristal.



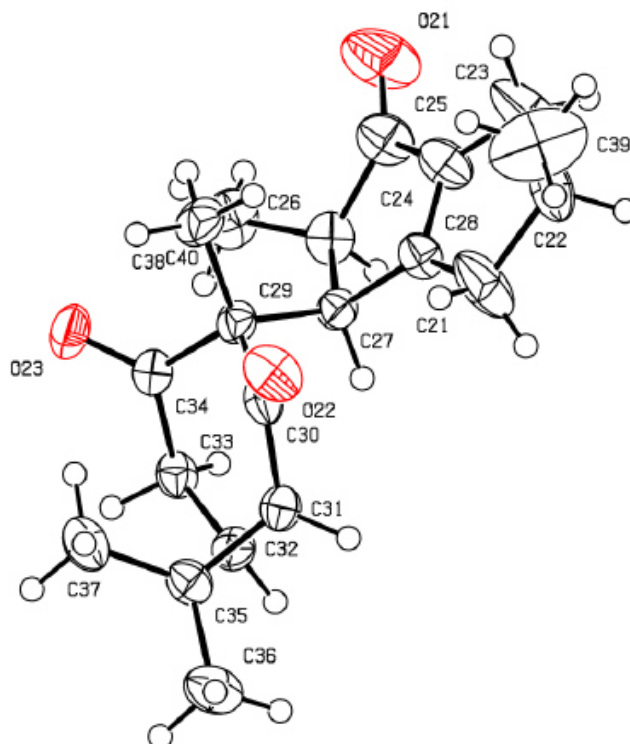
**Figura 39.** Figura ORTEP de citlalitriona

Los datos del cristal de riolozatriona son los siguientes,  $C_{20}H_{26}O_3$ ,  $M = 314.41$ , ortorrómbico, grupo espacial  $P 2_1 2_1 2_1$ ,  $a = 7.51070(10) \text{ \AA}$ ,  $b = 11.4024(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 21.1329(4) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 106.231(3)$ , Volumen =  $1809.82(5) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $\rho = 1.154 \text{ mg/m}^3$ ,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.603 \text{ mm}^{-1}$ , total de reflexiones = 68276, reflexiones únicas 3702 [ $R(\text{int}) = 0.0382$ ]. El índice R final donde  $[I > 2\sigma(I)]$  fue  $R_1 = 0.0387$ ,  $wR_2 = 0.1035$ . El pico de mayor diferencia y el hoyo: 0.136 and  $-0.139 \text{ e.\AA}^{-3}$ . El cálculo del parámetro Flack,  $x = -0.01(5)$ . La configuración de cada centro quiral de la molécula es: C6S, C7S, C9S, C11R, C12S. La Figura 40 muestra el acomodo de la molécula en el cristal.



**Figura 40.** Figura ORTEP de riolozatriona

Los datos del cristal de 6-*epi*-riolozatriona son los siguientes,  $C_{20}H_{26}O_3$ ,  $M = 314.41$ , monoclinico, grupo espacial  $P 2_1$ ,  $a = 10.9452(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 14.3051(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 11.8175(3) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 105.382(2)$ , Volumen =  $1784.01(7) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $\rho = 1.171 \text{ mg/m}^3$ ,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.603 \text{ mm}^{-1}$ , total de reflexiones = 6274, reflexiones únicas 3914. El cálculo del parámetro Flack,  $x = 0.04(5)$ . La Figura 41 muestra el acomodo de la molécula en el cristal.



**Figura 41.** Figura ORTEP de 6-*epi*-riolozatriona

### 3.3 Determinación de la Actividad Biológica *in vitro* de los Precursores de Riolozatriona

Se determinó la actividad citotóxica en células Vero de acuerdo a lo especificado en la sección 2.2.3.1 y la actividad anti-herpética de acuerdo a lo descrito en la sección 2.2.3.2 con el correspondiente cálculo del índice de selectividad (Tabla XVI).

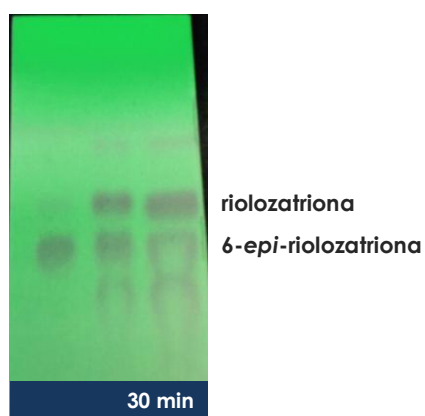
**Tabla XVI.** Actividad citotóxica y anti-herpética de diterpenoides obtenidos de *Jatropha dioica*.

Compuesto	Células Vero	VHS-1	VHS-2	IS <sup>b</sup>
	CC <sub>50</sub> µg/mL <sup>a</sup>	CI <sub>50</sub> µg/mL <sup>a</sup>	CI <sub>50</sub> µg/mL <sup>a</sup>	CC <sub>50</sub> /CI <sub>50</sub>
Jatrofatriona	478.2 ± 39.5	92.0 ± 9.4	>100	5.2/ND
Citlaltatriona	>500.0	>100	>100	ND <sup>d</sup>
Rioloatriona	384.0 ± 1.9	66.0 ± 8.6	66.0 ± 5.9	5.8/5.8
6- <i>epi</i> -rioloatriona	183.4 ± 17	56.4 ± 4.1	54.1 ± 4.3	3.2/3.4
Acyclovir <sup>c</sup>	ND <sup>d</sup>	4.75 x 10 <sup>-6</sup> ± 0.31	3.11 x 10 <sup>-6</sup> ± 0.10	ND <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Resultados son expresados como ± DE (n=3). <sup>b</sup> IS es el Índice de selectividad, IS=CC<sub>50</sub>/CI<sub>50</sub>. <sup>c</sup> Control Positivo. <sup>d</sup> No determinado

### 3.4 Comprobación de Isomerización de 6-*epi*-rioloatriona a rioloatriona

Se observó la interconversión de 6-*epi*-rioloatriona a rioloatriona bajo las condiciones planteadas en la sección 2.2.4 como se muestra en la separación por CFF (Figura 42).



**Figura 42.** Interconversión de 6-*epi*-rioloatriona a rioloatriona



## CAPÍTULO 4

### DISCUSIÓN

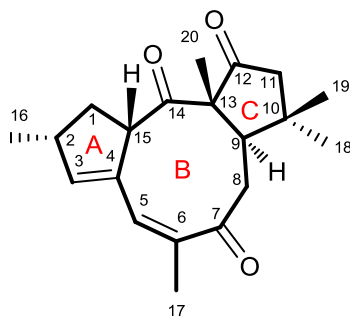
Los estudios sobre la biosíntesis de productos naturales se pueden realizar, en general mediante dos estrategias. La primera considera el aislamiento de precursores, metabolitos intermedios, hasta los productos finales de la ruta biosintética y la segunda aproximación los mecanismos de reacción en la hipótesis de rutas biogénicas.

#### 4.1 Estudio Computacional de la Biogénesis de Rioloatriona

Se planteó el mecanismo de reacción para la biogénesis de rioloatriona con base a los datos coleccionados de una revisión bibliográfica. Se propuso como precursor inicial el diterpeno jatrofatriona, reportado en la literatura como un componente aislado de la raíz de *Jatropha dioica*. Debido a la similitud estructural que guarda citlaltatriona, otro componente presente en la raíz de la planta, citlaltatriona también puede considerarse un precursor inicial; ambos diterpenos tienen un esqueleto del tipo ciclojatrofano. La biogénesis de jatrofatriona se ha relacionado con un intermediario de tipo latirano, de acuerdo al estudio

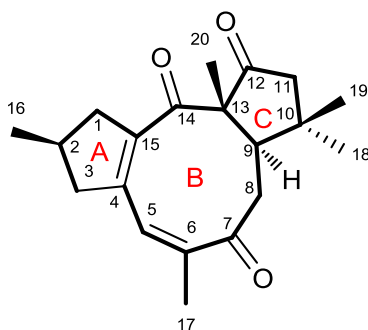
realizado por Torrance en 1976 <sup>34</sup> y la relación biogenética de riolozatriona con un derivado de tipo latirol sugerida por Domínguez en 1980 <sup>31</sup>, establece la relación entre ambos compuestos. Aunado a ello, ambos compuestos presentan ciertas características estructurales, como son: 1) la presencia de 5 metilos, de los cuales 2 de ellos se encuentran unidos a un mismo carbono, 2) la presencia de 3 grupos ceto y 3) la presencia de un anillo de ciclopentano sustituido por un metilo en posición  $\beta$ .

En el mecanismo I representado en la Figura 11, se planteó al diterpeno jatrofatriona como precursor inicial; en este producto natural la posición del metilo 16 se encuentra en  $\alpha$  (Figura 43). En esa primera propuesta, el anillo A de la jatrofatriona se mantenía sin cambio hasta el producto final de la biogénesis, sin embargo, el metilo 16 que corresponde al metilo 19 en la riolozatriona se encontraba en posición  $\beta$  (Figura 7). Por lo anterior fue necesario plantear una reacción de isomerización a partir de la jatrofatriona, la cual es factible mecanísticamente en dos pasos: 1) la formación de un enol C-7, 2) la protonación del doble enlace C-2 formado, sin embargo, no se pudo comprobar computacionalmente el estado de transición del segundo paso.



**Figura 43.** Estructura y numeración de jatrofatriona

En el transcurso de la obtención de los resultados teóricos y los resultados de la parte experimental se obtuvo una mezcla de dos compuestos nuevos a partir del extracto de diclorometano de la raíz de *J. dioica*, la cual se caracterizó por métodos espectroscópicos y se identificó como *iso*-jatrofatriona en mezcla de C-2 epímeros. En particular el isómero *2R* presentó dos características importantes para incluirlo como precursor inicial y modificar la biogénesis de riolozatriona propuesta en el mecanismo I (Figura 44): a) tener el metilo 16 en posición  $\beta$ , que corresponde con el metilo 19 de riolozatriona, lo cual permitía mantener el anillo A sin cambios de configuración desde el precursor hasta el producto final de la biogénesis, y b) la posición del doble enlace que une los carbonos 4 y 15 que corresponde al doble enlace que une los anillos de ciclopentano fusionados de la riolozatriona (Figura 7).

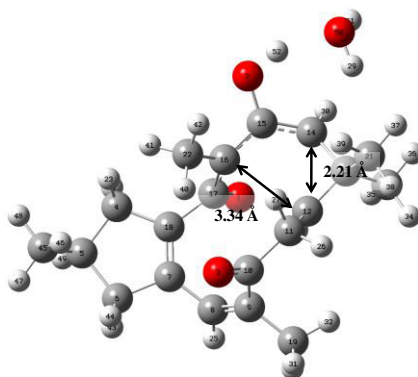


**Figura 44.** Estructura y numeración de *2R iso*-jatrofatriona

La secuencia de reacciones elementales que permiten la transformación de *2R iso*-jatrofatriona a riolozatriona (Figura 12), se comprobó computacionalmente mediante la obtención de los estados de transición, donde se observó el modo normal de vibración asociado a cada transformación. Además los estados de transición propuestos se

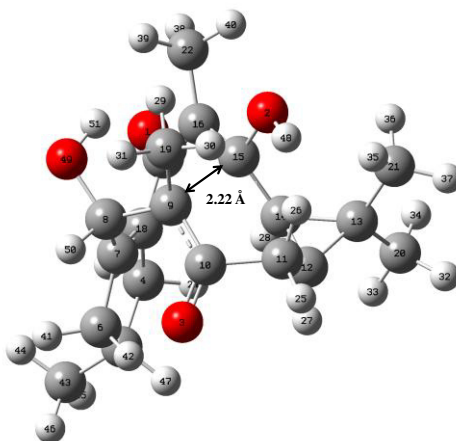
comprobaron con el cálculo de coordenada de reacción intrínseca tal como reportan otros autores.<sup>26, 41</sup> El análisis conformacional de los compuestos involucrados fue importante en la obtención de los estados de transición (Tablas I-IV).

En el mecanismo II, ocurre a una transferencia de protón, para formar un enol del precursor inicial *2R iso*-jatrofatriona. La reacción posterior ocurre mediante un mecanismo de manera concertada, al mismo tiempo que se abre el anillo de ciclopentano se forma el anillo de ciclopropano. En el estado de transición de esta reacción se observó que la distancia entre los carbonos C-12 y C-16 fue 3.34 Å, lo que demuestra la apertura del anillo de ciclopentano y un acortamiento de la distancia entre los C-12 y C-14 igual a 2.21 Å (Figura 45), que finalmente en el nuevo anillo de ciclopropano formado fue de 1.53 Å. El mecanismo concertado se observó en el modo normal de vibración del estado de transición. Esta reacción presentó una energía de barrera de 76 kcal/mol en la simulación, el cual representa un valor poco elevado (Figura 13).



**Figura 45.** Estado de transición de la reacción de formación de ciclopropano

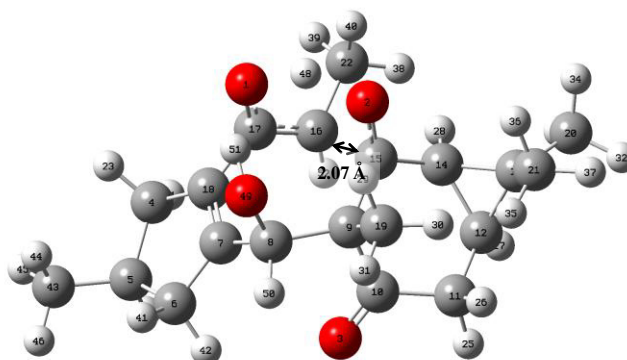
En la siguiente reacción, el intermediario **2** del mecanismo sufre la adición de un oxhidrilo que proviene de una molécula de agua a través de la reacción de Michael y el anión formado se adiciona de forma transanular para dar lugar a un intermediario de tipo premirsinano (intermediario **3**) en un mecanismo concertado. En esta reacción se forma un nuevo enlace C-C intramolecular. En el estado de transición la distancia entre el C-9 y C-15 fue de 2.22 Å, al formar el anillo de 6 miembros esa distancia disminuyó a 1.59 Å (Figura 46). La energía de barrera para esta reacción fue 11 kcal/mol (Figura 14).



**Figura 46.** Estado de transición de la reacción de Michael transanular

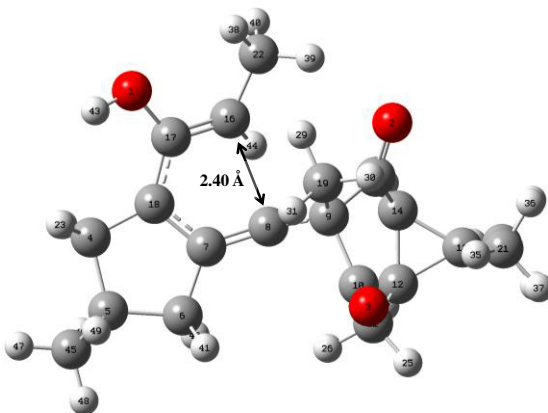
En una reacción retro-aldol, el intermediario **3** forma el intermediario **4**. En el estado de transición de esta reacción se observó una ruptura de enlace entre C-15 y C-16, la distancia entre estos carbonos fue 2.07 Å y una transferencia de protón del O-2 al O-1 de carbonilo C-17 formando así la estructura enólica indispensable para la formación del anillo de riolozano en el siguiente paso (Figura 47). La energía de barrera para esta reacción fue 35 kcal/mol (Figura 15).





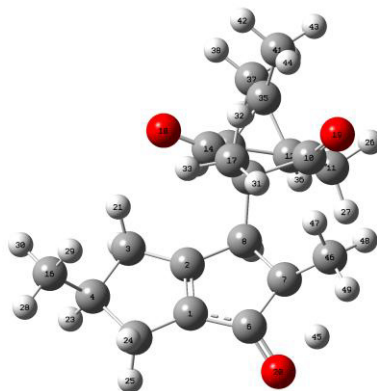
**Figura 47.** Estado de transición de la reacción de retro-aldol

Posteriormente una reacción de oxidación da origen al intermediario **5**. Se conoce que este tipo de reacciones en general presentan altas energías de activación, tal como reportan para la oxidación del careno con energía de activación de 230.58 kJ/mol.<sup>42</sup> Debido a ello se decidió no someterla a calculo. En una reacción de condensación aldólica y la posterior deshidratación del aldol se origina el intermediario **6**. En el estado de transición de esta reacción la distancia entre C-8 y C-16 disminuyó a 2.40 Å respecto al intermediario **5**, donde la distancia entre C-8 y C-16 fue de 4.37 Å, lo cual muestra la formación de un nuevo enlace C-C que da origen a un nuevo anillo de 5 miembros y completa el esqueleto de tipo riolozano (Figura 48). La reacción presentó una energía de barrera de 9 kcal/mol (Figura 16).



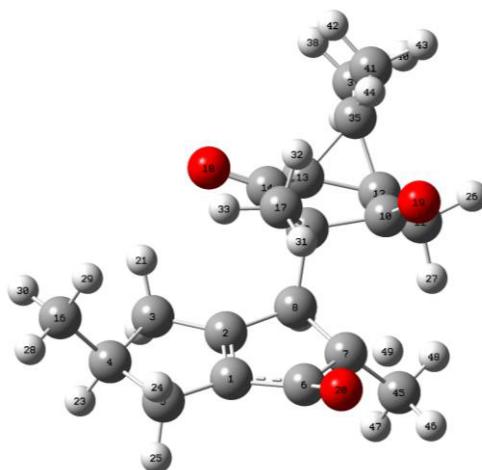
**Figura 48.** Estado de transición de la reacción de condensación aldólica

El intermediario **6** se reduce selectivamente para formar el intermediario **7** que es la 6-*epi*-riolozatriona, un compuesto nuevo aislado también de los extractos de la planta. Ésta reacción tampoco fue calculada, debido a que también está reportado en la literatura que estas reacciones presentan valores altos de energía de activación, como los que se obtuvieron para terpenos de las oleorresinas del pino con valores para reacciones de hidrogenación de hasta 133.83 kJ/mol.<sup>43</sup> Finalmente la reacción de isomerización vía enol de la 6-*epi*-riolozatriona a riolozatriona, sigue un mecanismo de dos pasos; en el estado de transición del primer paso se observó la transferencia del protón de C-7 al C-6 para formar un enol (Figura 49).



**Figura 49.** Estado de transición de la formación de enol en 6-*epi*-riolozatriona

En el estado de transición del segundo paso, se comprobó la protonación del enol por arriba del plano del anillo de 5 miembros para generar el cambio de configuración del C-7 que origina al producto final de la biogénesis estudiada, la riolozatriona (Figura 50). En el mecanismo de isomerización las energías de barrera fueron de 67 kcal/mol para el primer paso y de 42 kcal/mol para el segundo paso (Figura 17).



**Figura 50.** Estado de transición de la protonación del enol en 6-*epi*-riolozatriona

Los diagramas de energía presentados para la reacción de formación de ciclopropano, retro-aldol e isomerización de 6-*epi*-riolozatriona presentaron energías de barrera mayores a 20 kcal/mol en la biogénesis planteada, es probable que en la naturaleza por la acción enzimática reacciones de ese tipo no tengan valores elevados. Esta descrito en la literatura que reacciones de formación de enlaces C-C intramoleculares pueden ser catalizadas por enzimas como la CYP725A4, estudiada en la biosíntesis de paclitaxel a partir de *Taxus brevifolia*<sup>44</sup>, esto podría disminuir la energía de barrera que se obtuvo para la reacción de formación de ciclopropano, sin embargo, no hay reportes de este tipo de enzimas en *Jatropha dioica*.

Es importante mencionar que las simulaciones se realizaron con un nivel de cálculo semi-empírico, en este caso PM6, por lo cual es necesario calcular nuevamente los intermediarios y los estados de transición con un nivel de teoría más alto que incluya correlación electrónica, con la finalidad de mejorar la simulación y evaluar si las energías de barrera disminuyen para las reacciones que presentaron valores altos.<sup>26</sup>

Con el fin de comprobar la isomerización de 6-*epi*-riolozatriona a riolozatriona. En un primer experimento se hizo reaccionar 6-*epi*-riolozatriona con metóxido de sodio en metanol a temperatura ambiente, toda la materia prima se transformó en riolozatriona, con un rendimiento casi cuantitativo (Figura 42). Por el contrario, cuando se hizo reaccionar a la riolozatriona bajo las mismas condiciones de reacción, no fue posible la recuperación de 6-*epi*-riolozatriona. Esto demuestra que el producto de control cinético obtenido (6-*epi*-riolozatriona), que podría ser considerado el producto natural original, se transforma en el





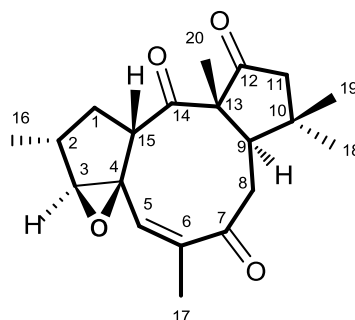
## 4.2 Aislamiento de los Precursores de Rioloatriona

En el desarrollo de este objetivo se evaluaron varios métodos de extracción de la raíz de la planta con la finalidad de mejorar el porcentaje de recuperación de los compuestos, de esta evaluación se determinó que mediante la extracción directa con diclorometano se recuperaba mayor cantidad de los compuestos principales: citlaltatriona, 6-*epi*-rioloatriona, rioloatriona y jatrotatriona. Se desarrolló un método por cromatografía de líquidos de alta resolución (que utiliza como disolvente un gradiente de acetonitrilo/agua en modo gradiente), para la separación y evaluación de los componentes de los extractos de *Jatropha dioica* (Figura 18).

Se caracterizaron 6 diterpenos a partir de los extractos de la raíz de *Jatropha dioica*. Cuatro de ellos poseen un esqueleto del tipo 9-13 ciclojatrofano: citlaltatriona y jatrotatriona ya han sido descritos en la literatura, mientras que los otros dos, son estructuras nuevas que corresponden a isómeros de posición del doble enlace de la jatrotatriona, los cuales se nombraron con *2S iso*-jatrotatriona y *2R iso*-jatrotatriona. Además de rioloatriona, un nuevo diterpeno con esqueleto de tipo riolozano fue aislado y se nombró como 6-*epi*-rioloatriona, el cual representa el segundo compuesto con esqueleto de tipo riolozano. La asignación inequívoca de las señales de H y C de todos los compuestos se realizó por espectroscopia de resonancia magnética nuclear de una y dos dimensiones.

Jatrofatriona es un diterpeno tricíclico (5.9.5), con fórmula molecular  $C_{20}H_{26}O_3$  aislado por primera vez de los extractos de cloroformo de *J. macrorhiza*.<sup>34</sup> Reportada también de *J. gossypifolia* (Figura 43).<sup>45</sup>

Citlaltiriona es un diterpeno de tipo epoxitiriona de fórmula  $C_{20}H_{26}O_3$  ya descrito, aislado de los extractos de raíz y tallo de *J. dioica*<sup>35</sup> y *J. Integerrima*. Aislada también de material de la planta completa seca de *J. gossypifolia*.<sup>6</sup> Al igual que la jatrofatriona, presenta un núcleo tricíclico 5.9.5 (Figura 52).



**Figura 52.** Estructura y numeración de citlaltiriona

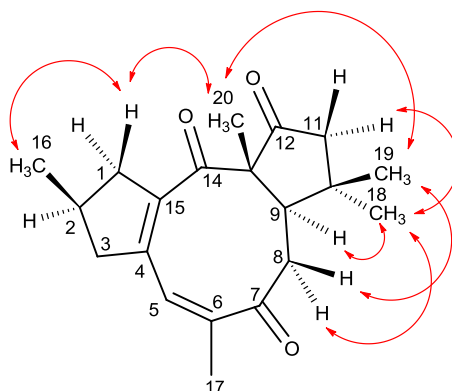
La obtención del nuevo compuesto con esqueleto de diterpeno 9-13 ciclojatrofano, denominado *2R iso-jatrofatriona*, fue crucial para el estudio teórico de la biogénesis de riolozatriona, debido a que en este compuesto se pudo mantener sin cambios el anillo A en el transcurso de las reacciones planteadas de la biogénesis (Figura 44). Es importante la posición  $\beta$  del metilo 16 en este compuesto, ya que corresponde con la posición  $\beta$  del

metilo 19 de la riolozatriona, además de la posición 4-15 del doble enlace que corresponde a la posición 4-8 de la riolozatriona (Figura 7).

En el análisis espectroscópico la muestra analizada fue una mezcla de C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona en una proporción 3:1 (*2R* respecto a *2S*), los cuales no se lograron separar con la metodología seguida. Esto se muestra también en el análisis por CLAR (Figura 22).

El análisis por espectrometría de masas de baja resolución de la mezcla permitió determinar una fórmula molecular que corresponde a  $C_{20}H_{26}O_3$  con una  $m/z [M]^+ = 315.7$ . Posteriormente la muestra se sometió a un análisis por UHPLC-MS y se determinó la masa molecular de cada pico cromatográfico de la mezcla de ambos epímeros. Se obtuvo  $m/z [M]^+ = 315.8$  y  $m/z [M]^+ = 315.0$  para *2R* y *2S* respectivamente. De acuerdo al análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1H$ -RMN y  $^{13}C$ -RMN obtenidos de la mezcla, se observaron señales dobles casi en el mismo desplazamiento químico lo que indica la presencia de los epímeros en la muestra (Tabla XIII y Apéndice 8.5). Las señales obtenidas en RMN presentaron similitud con las de la jatrofatriona. Se establecieron las conectividades C-H mediante el análisis detallado de los espectros de 1D y 2D. Durante la caracterización estructural por resonancia magnética nuclear de 2D, particularmente en el experimento NOESY de la mezcla, se logró diferenciar las correlaciones de ambos epímeros. En este análisis se observaron casi las mismas correlaciones presentes en la jatrofatriona, sin embargo, en la *2R iso*-jatrofatriona se observó la correlación de los hidrógenos del metilo 16 con el protón 1- $\beta$ , el cual a su vez correlacionó con la señal de los

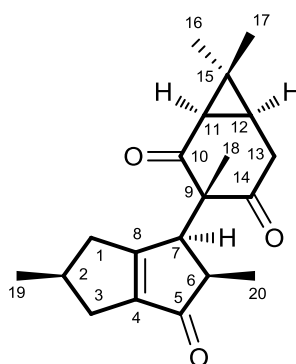
protones del metilo 20, confirmando así que la 2*R* *iso*-jatrofatriona tiene la configuración opuesta a jatrofatriona y citlaltatriona en el C-2 (Figura 53). La confirmación permitió proponerlo como precursor inicial en la biogénesis de riolozatriona por las razones explicadas anteriormente. Por otra parte en las correlaciones observadas para el 2*S* *iso*-jatrofatriona, se determinó que tiene la misma configuración en el C-2 que la jatrofatriona y citlaltatriona, y debido a esto es probable que estos compuestos estén relacionados biogenéticamente, sin embargo, queda como perspectiva confirmarlo.



**Figura 53.** Correlaciones NOE de 2*R iso*-jatropatriona.

Se encontraron reportes de otros diterpenos de tipo ciclojatrofano, como los 12-17 ciclojatrofanos aislados de *Euphorbia welwitschii*,<sup>46</sup> pero no se encontraron reportes de otros diterpenos naturales de tipo 9-13 ciclojatrofano adicionales a jatrofatriona y citlalitriona.<sup>34,35</sup> Por lo tanto los C-2 epímeros de *iso*-jatrofatriona representan dos compuestos nuevos de este tipo estructural aislados a partir de *Jatropha dioica*, con un doble enlace entre los carbonos 4-15.

En una aproximación similar, se aisló un epímero de riolozatriona en el carbono 6 al cual se le denominó 6-*epi*-riolozatriona, este compuesto no ha sido reportado en la literatura y representa el segundo compuesto con estructura de diterpeno de tipo riolozano además de la riolozatriona (Figura 54).

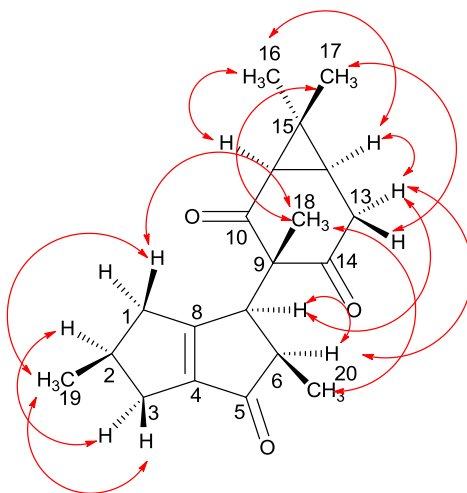


**Figura 54.** Estructura y numeración de 6-*epi*-riolozatriona

Mediante el análisis por espectrometría de masas de alta resolución, se determinó la fórmula molecular del compuesto que corresponde a  $C_{20}H_{26}O_3$  con una  $m/z$   $[M^+]=315.19650$  (Calculada 315.19602) (Figura 33). De acuerdo al análisis de los resultados de los experimentos de resonancia magnética nuclear de  $^1H$ -RMN y  $^{13}C$ -RMN realizados en  $CDCl_3$  se observó similitud con las señales de riolozatriona, con cambios en el desplazamiento químico de las señales de hidrógeno de 6, 7, 13 y 20. Además, se observó que las señales de los carbonos 7, 9 y 18 fueron de muy baja intensidad, lo que indica que estos núcleos tienen un tiempo de relajación muy pequeño (Tabla XI, Apéndice 8.1). Las correlaciones de los experimentos de doble dimensión (COSY, HSQC, HMBC) fueron importantes para determinar las conectividades del esqueleto de tipo riolozano. En el



experimento NOESY se observó correlación del hidrógeno 6 con el hidrogeno 7, lo cual permitió determinar la posición  $\beta$  del metilo 20 como el cambio de estereoquímica respecto a riolozatriona (Figura 55).<sup>31,47</sup> Cabe mencionar que los experimentos de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN y 2D-RMN de 6-*epi*-riolozatriona y riolozatriona también se realizaron en metanol-*d*4, donde se observó una mejor separación de las señales lo cual facilitó el cálculo de las constantes de acoplamiento (Tabla XII, Apéndice 8.2). Además se realizó una comparación de las señales de 6-*epi*-riolozatriona y riolozatriona procesados con el software NUTS, lo cual también permitió calcular las constantes de acoplamiento con mayor definición (Apéndice 8.4).



**Figura 55.** Correlaciones NOE de 6-*epi*-riolozatriona

En este trabajo se observó que el método de extracción influye en la proporción de los componentes recuperados, debido a que en un inicio se realizaban extracciones hidroalcohólicas de la raíz de la planta y consecutivamente se realizaba extracciones

diferenciales del extracto recuperado con hexano, acetato de etilo y butanol. Con esta metodología no se detectó la presencia de 6-*epi*-riolozatriona en los extractos diferenciales. Es posible que la extracción hidroalcohólica favoreciera la transformación de 6-*epi*-riolozatriona a riolozatriona por ser un medio ligeramente ácido compatible con la isomerización ácido-base. Posteriormente se modificó el método de extracción, se realizaron extractos directos de la raíz de la planta con diclorometano, donde se logró recuperar en cantidad importante la 6-*epi*-riolozatriona. Por lo anterior aun queda como perspectiva diseñar algún otro experimento que confirme los resultados observados en este trabajo, respecto a considerar a la riolozatriona como un artefacto formado en el proceso de la extracción. La literatura reporta que los artefactos pueden originarse de los disolventes en la química de productos naturales, debido a que pueden catalizar reacciones. La presencia de artefactos lleva a la formación de compuestos nuevos con cambios en la actividad, modificación en el rendimiento total de compuestos durante el aislamiento, formación de compuestos tóxicos y dificultad en reproducir un método de extracción o purificación.<sup>48, 49</sup>

#### **4.3 Determinación de la Configuración Absoluta de los Compuestos**

En el estudio de las rutas biosintéticas de los productos naturales es muy importante establecer la configuración de los carbonos de los compuestos involucrados. Los terpenos tienen estructuras de estereoquímica compleja debido a la presencia de varios centros estereogénicos. Para asignar la configuración absoluta de los productos naturales existen los métodos como la correlación química determinada por resonancia magnética nuclear, el dicroísmo circular electrónico y dicroísmo circular vibracional.

La difracción de rayos X de un monocristal tiene la capacidad de distinguir entre enantiomorfos de una estructura cristalina quiral y los enantiómeros de una molécula quiral, cuando se utiliza el parámetro Flack. La técnica puede ser aplicada a un vasto rango de compuestos. La información química esencial como la geometría molecular, distancia de enlace, ángulos y empaquetamiento de las moléculas en el cristal son parte de los resultados del análisis. La configuración absoluta determinada depende de la identificación de pequeñas diferencias en la intensidad entre dos modelos de estructura cristalina de quiralidad opuesta. En el caso de compuestos que solo tienen átomos ligeros no existe una garantía de que presenten una diferencia significativa. La distinción de un monocristal por rayos X, se basa en el fenómeno de la dispersión de resonancia, y el efecto en la intensidad de la difracción se mide por el parámetro Flack. Las diferencias en la intensidad, solo ocurren si la frecuencia resonante del objeto difractado es cercana a la radiación electromagnética incidente.<sup>51</sup>

El parámetro Flack es un factor usado para estimar la configuración absoluta de un modelo estructural determinado mediante el análisis de la estructura de un solo cristal. Los valores del parámetro Flack están en una escala entre 0 y 1. Si el valor es cercano a cero, la estructura absoluta dada por el refinamiento es la correcta y si el valor es cercano a 1, la estructura inversa es la correcta. Si el valor es cercano a 0.5, el cristal puede ser una mezcla racémica.<sup>51</sup>

Por otra parte los métodos espectroscópicos quirópticos como el dicroísmo circular vibracional (DCV) han sido desarrollados para establecer la configuración absoluta de

moléculas quirales en solución. Los resultados de esta técnica pueden ser soportados por comparación de los espectros experimentales con los espectros calculados por mecánica cuántica, específicamente los que se realizan con teoría de funcionales.<sup>50,52</sup>

En la sección 3.2.4.1 se muestra la comparación de los espectros de IR y DCV obtenidos experimentalmente y los calculados de jatrofatriona, citlaltiriona, riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona, mediante el uso del software Compare VOA. En la comparación de los espectros IR se obtuvo el índice anH, un valor para escalar las frecuencias calculadas con DFT. Posteriormente se calculó el valor  $S_{IR}$ , que es el índice de similitud entre los espectros de IR comparados, y además se calculó el valor  $S_E$ , que es el índice resultante de comparar el espectro DCV experimental con el espectro DCV de la estructura propuesta. Como los espectros de un compuesto y su enantiómero son de signo opuesto, con el uso de programa se calcula el índice de similitud del espectro experimental con el espectro del enantiómero y se identifica como  $S_{-E}$ . En el caso ideal se esperaría obtener índices de  $S_E$  y  $S_{-E}$  de 100 y 0 respectivamente al proponer la configuración correcta.<sup>53</sup> Del análisis comparativo se observaron niveles altos para la similitud con la estructura propuesta y bajos para el enantiómero incorrecto para los 5 compuestos, lo cual indica que la configuración absoluta corresponde a la estructura propuesta y esto se validó con el nivel de confianza calculado para las comparaciones, que en todos los compuestos evaluados fue de 99% (Tabla XV).

En la sección 3.2.4.2 se muestran las características de los cristales que corresponden a citlaltiriona, riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona. El parámetro Flack para citlaltiriona fue  $x = -0.01(5)$ , el cual indica que la estructura planteada es la correcta pues

corresponde a la estructura obtenida del refinamiento. Al igual para riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona con valores también cercanos a cero,  $x = -0.01(5)$  y  $x = 0.04(5)$  respectivamente.

Los resultados de la configuración absoluta determinada por difracción de rayos X y dicroísmo circular vibracional son consistentes con la configuración relativa ya reportada para jatrofatriona, citlaltatriona y riolozatriona.<sup>31, 34, 35</sup>

La confirmación de la configuración absoluta de precursores y del producto final de la biogénesis por difracción de rayos X y dicroísmo circular vibracional fue determinante en el planteamiento y el estudio teórico de la biogénesis de riolozatriona.

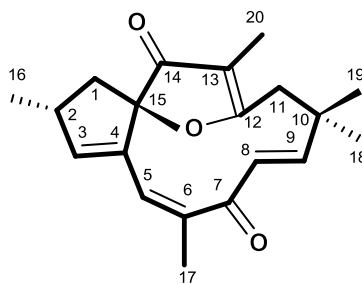
#### **4.4 Determinación de la Actividad Biológica *in vitro* de los Precursores de Riolozatriona**

Debido a que la riolozatriona, el producto final de la biogénesis estudiada tiene actividad anti-herpética moderada, se decidió evaluar la actividad anti-herpética *in vitro* de los compuestos que se aislaron en cantidades adecuadas.



La actividad anti-herpética de los compuestos aislados se evaluó mediante el cálculo del índice de selectividad, que se define como la relación de la concentración citotóxica media ( $CC_{50}$ ) respecto a la concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ).

Se evaluó la actividad citotóxica de jatrofatriona, citlaltatriona y 6-*epi*-riolozatriona mediante el ensayo de MTT en células Vero, una línea celular de epitelio de riñón de mono verde africano. Los diterpenos jatrofatriona y citlaltatriona no presentaron citotoxicidad a las concentraciones evaluadas, mientras que la 6-*epi*-riolozatriona presentó el valor más bajo de  $CC_{50}$  respecto a los otros diterpenos (Tabla XVI). Se encontró un reporte de actividad citotóxica de jatrofatriona en una línea celular tumoral, pero no en líneas celulares normales. Se ha demostrado que jatrofona (Figura 56) es un inhibidor de tumores vía electrofílica reaccionando con grupos tiol de macromoléculas biológicas, como la ARN polimerasa y albumina sérica bovina de *E. coli*, los resultados soportan la hipótesis de que estos agentes pueden actuar por alquilación selectiva de macromoléculas que regulan el crecimiento.<sup>54</sup>



**Figura 56.** Estructura y numeración de jatrofona

Debido a que jatrofatriona está relacionada estructuralmente con jatrofona y que la biogénesis de ambos compuestos puede derivar de un precursor bicíclico, Torrance y colaboradores discuten que jatrofatriona tiene actividad alquilante y esta se debe posiblemente a que jatrofatriona puede dar una reacción de adición de Michael inversa para dar un intermediario con el doble enlace en la posición 8 (Figura 43), necesario para la adición nucleofílica de tioles observada en la jatrofona. En el ensayo demostraron que jatrofatriona tiene una actividad de 130% de la relación grupo tratado/ grupo control (T/C) y 141% T/C a 1 y 0.5 mg/kg respectivamente, en un modelo de leucemia linfocítica P-388 (3PS). La actividad en 3PS es definida como un incremento en la supervivencia de animales tratados sobre grupo control en una relación  $T/C \geq 125\%$ .<sup>34</sup>

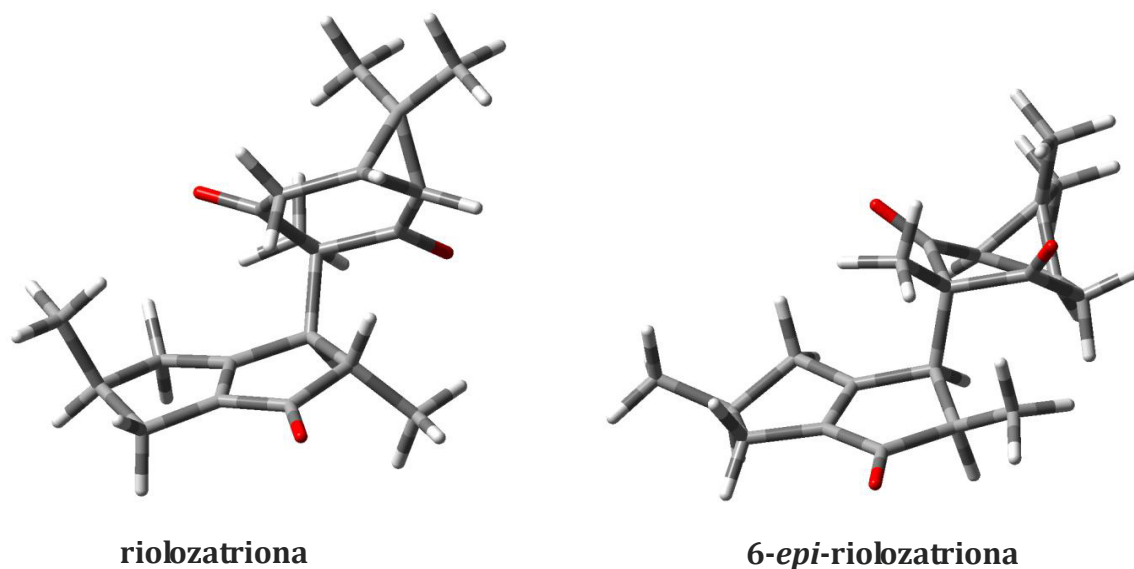
Por otra parte en la literatura existen reportes de la actividad citotóxica de los extractos de *Jatropha dioica*, Silva Belmares y colaboradores evaluaron la actividad citotóxica del extracto de hexano de la planta y una fracción enriquecida con  $\beta$ -sitosterol en 3 líneas celulares normales: LLCPK-1 (células de riñón de puerco), Chang (hepatocitos humanos) y OK (riñón de zarigüeya). No encontraron citotoxicidad significativa y reportaron valores de  $CC_{50}$  mayores a 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Los autores señalan que aunque muchas especies de la familia Euphorbiaceae poseen gran cantidad de compuestos tóxicos capaces de destruir células normales de mamíferos, no es el caso de la especie *J.dioica*.<sup>55</sup>

Silva Mares y colaboradores reportaron valores mayores a 1000  $\mu\text{g/mL}$  para el extracto de butanol y acetato de etilo y de 882  $\mu\text{g/mL}$  para el extracto de hexano, estos valores indican que los extractos no son citotóxicos.<sup>32</sup>

De los resultados de la actividad anti-hérbetica evaluada *in vitro* mediante el ensayo de reducción de placas no se observó diferencia en la actividad de jatrofatriona y citlaltatriona frente al VHS-2. Por otro lado, en la actividad frente al VHS-1, se observó que al comparar los diterpenos con esqueleto de tipo ciclojatrofano, resultó más activa jatrofatriona respecto a citlaltatriona con un valor de  $CI_{50}$  de 92.0  $\mu\text{g/mL}$ , estructuralmente el doble enlace de la posición 3 en jatrofatriona (Figura 43) parece ser importante para la actividad anti-hérbetica, puesto que la sustitución de este doble enlace por un grupo epóxido en citlaltatriona disminuye la actividad. Existen reportes en la literatura que indican que compuestos de tipo ciclopenteno monocíclicos tienen actividad contra el virus de la influenza, pero no se encontraron reportes de actividad contra el virus del herpes simplex.<sup>56</sup>

El cálculo del índice de selectividad de jatrofatriona indica que tiene un índice con un valor de 5.2 para VHS-1, similar al reportado para riolozatriona que es de 5.8, lo cual indica que estos compuestos tienen actividad anti-herpética moderada.

Al comparar la actividad anti-hérbetica de los compuestos con esqueleto de tipo riolozano, en este caso riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona, se observó que un cambio en la configuración de un solo centro estereogénico influye en el acomodo espacial de las moléculas y posiblemente en la interacción con el receptor. Tal como se mencionó estos dos compuestos son epímeros en el carbono 6, ese pequeño cambio hace que el anillo de 1-3 ciclohexadienona se disponga hacia adelante en la riolozatriona y hacia atrás en la 6-*epi*-riolozatriona, posiblemente por el impedimiento estérico que genera el metilo 20 en posición  $\beta$  (Figura 57).



**Figura 57.** Vista 3D de riolozatriona y 6-*epi*-riolozatriona

En la tabla XVI se muestra que los cambios de configuración y conformación en la 6-*epi*-riolozatriona influyen en que disminuya la actividad; posiblemente estos cambios no favorecen la interacción con el receptor.

Existe un gran número de reportes en la literatura que indica que los terpenos tienen propiedades anti-VHS, estos incluyen estructuras de tipo monoterpeno, diterpeno, sesquiterpeno y triterpeno. Entre estructuras de tipo monoterpeno se encuentra el isoborneol que mostró actividad virucida *in vitro* contra el VHS-1. Otros monoterpenos como el timol,  $\gamma$ -terpineno, 1-8-cineol,  $\alpha$ -pineno, *p*-cimeno,  $\alpha$ -terpineno, citral, terpineno-4-ol y  $\alpha$ -terpineol también han demostrado actividad antiviral contra VHS-1. El triptofordin C-2, un sesquiterpeno que inhibe la síntesis de proteínas virales de células infectadas cuando se agrega en etapas tempranas de la replicación de VHS-1, demostró la inhibición de la

traducción de los transcritos de los genes inmediatos tempranos con un índice de selectividad >10. Está reportado que diterpenos de tipo espongiano aislados de esponjas marinas como el espongiadiol, el epiespongiadiol y el isospongiadiol, presentaron actividad contra VHS-1 con valores de  $CI_{50}$  de 0.25, 12.5 y 2.0  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. Compuestos de tipo triterpeno con actividad contra VHS-1 son el ácido morónico y el ácido betulínico con valores de  $EC_{50}$  de 3.9 y 2.6  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. La actividad inhibitoria de la glicirricina, otro compuesto de tipo triterpeno fue evaluada en ratones infectados con VHS-1 y los resultados demostraron que el compuesto elimina la susceptibilidad del daño durante la infectividad del VHS-1.<sup>57-62</sup>

Sin embargo, existen pocos reportes de terpenos aislados de plantas del género *Jatropha* con actividad anti-herpética. Bueno y colaboradores encontraron que jatrolona A, un diterpeno aislado de *Jatropha isabelli* Muell Arg y un derivado semi-sintético de jatrolona B, obstaculizan la multiplicación de VHS-1 y la respuesta inflamatoria *in vitro* inducida por el VHS-1 en un mecanismo de acción distinto al ACV.<sup>63</sup>

Del estudio realizado en este trabajo se reporta la actividad anti-herpética de 3 compuestos de tipo diterpeno aislados de *Jatropha dioca*, que son menos activos que la riolozatriona, diterpeno aislado de la misma planta. El mecanismo de acción por el cual jatrolona y riolozatriona tienen actividad anti-herpética moderada aun no está elucidado (Tabla XVI).



#### 4.5 Hipótesis de la Ruta Biosintética de Rioloatriona

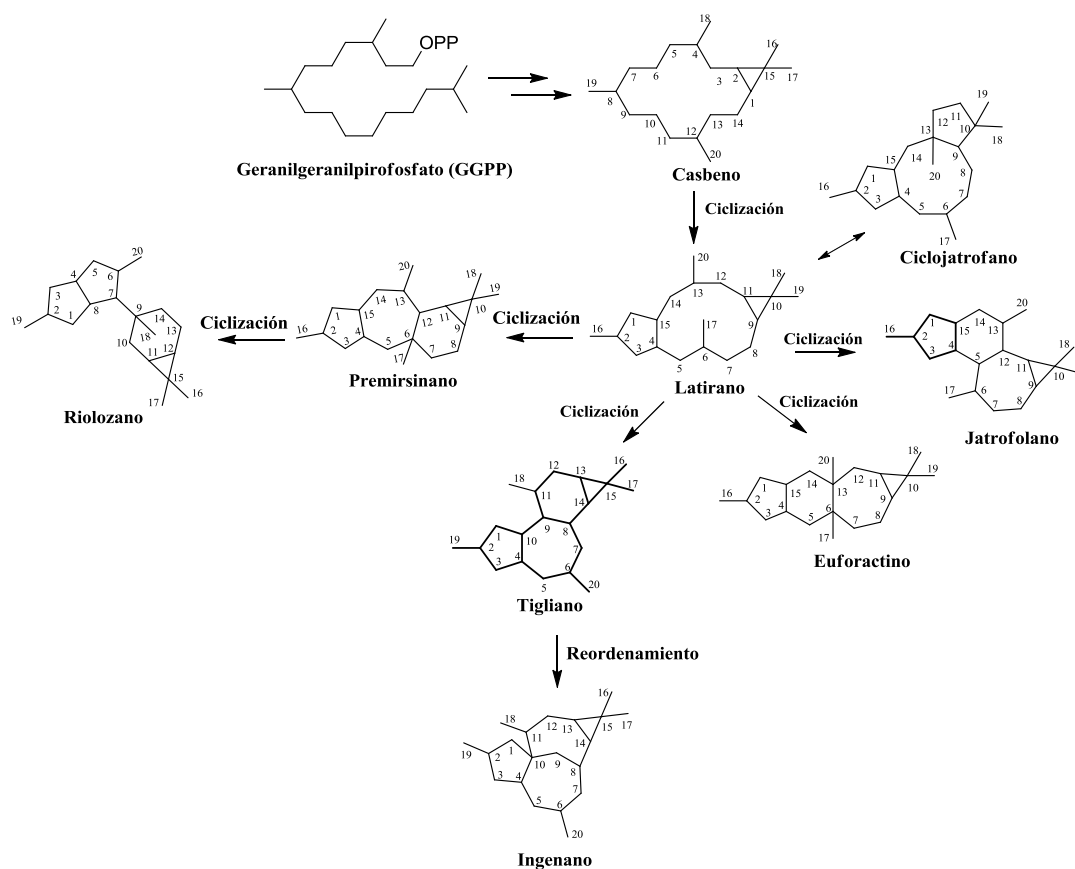
En una ruta biogénica se plantean los posibles mecanismos de reacción que dan origen a los productos naturales como una hipótesis y la simulación de esto, es como los productos naturales son sintetizados en la planta mediante una secuencia de reacciones catalizadas por enzimas, las cuales realizan las modificaciones químicas de los sustratos en virtud de sus propiedades de unión específicas conferidas por la combinación particular de grupos funcionales en los aminoácidos constituyentes. En el estudio de las rutas biosintéticas es importante identificar las enzimas involucradas en la formación de los productos naturales. En *Jatropha dioica*, no existen estudios de este tipo, sin embargo, de su congénere *Jatropha curcas*, está reportada la secuencia completa del genoma de la planta de donde se han identificado genes que codifican para enzimas relacionadas con la biosíntesis de terpenoides como la pirofosfatogeranilgeranil sintasa, una enzima relacionada con la formación del pirofosfato de geranilgeranilo que es el precursor inicial de la biosíntesis de todos los diterpenoides; la casbeno sintasa, enzima involucrada en la formación de casbeno, diterpeno bicíclico precursor de otros diterpenos que tienen presente el anillo de dimetilciclopropano; una terpeno hidroxilasa (citocromo P450 dependiente de monoxigenasa) y una aciltransferasa.<sup>64</sup> Otro reporte demuestra el aislamiento de la casbeno sintasa de la parte aérea de *J.curcas* (hojas y frutos), inexistente en las semillas. Los autores indican que debido a que encontraron a la enzima en la parte aérea, ahí se generan los precursores como el casbeno y éstos son transportados a otros organelos de la planta como las semillas para la formación de otros diterpenoides estructuralmente más complicados como los ésteres de forbol, los cuales tienen esqueleto de tipo tigliano.<sup>65</sup>

En general en las plantas las enzimas citocromo P-450 son responsables de la mayoría de las reacciones de oxidación en la biosíntesis de terpenoides,<sup>66</sup> pero también es posible que estén involucradas en la formación intramolecular de enlaces C-C en latiranos y tiglianos.<sup>67</sup> Se ha identificado una enzima CYP75A2 que cataliza la formación de un enlace intramolecular en el paclitaxel, diterpeno bien conocido.<sup>44</sup> Además las enzimas deshidrogenasas actúan en conjunto con una coenzima conveniente en el proceso de oxidación como la transformación de un alcohol a un grupo carbonilo.<sup>3</sup>

Es posible que enzimas citocromo P-450 estén involucradas en varias de las reacciones de la biogénesis propuesta para riolozatriona, como la ciclopropanación, la formación del intermediario de tipo premirsinano (intermediario 3) y en la formación del esqueleto de tipo riolozano que son pasos que involucran la formación de un enlace C-C intramolecular. Debido a las altas energías de barrera calculadas en el estudio teórico, la participación de este y otros tipos de enzimas justificaría esas transformaciones (Figuras 13,15 y 17).

Este trabajo realiza una nueva aportación al metabolismo ya descrito para diterpenoides (Figura 8)<sup>33</sup>, la formación de un esqueleto de tipo riolozano a partir de un esqueleto de tipo premirsinano y la inclusión del esqueleto de tipo ciclojatrofano que deriva de un esqueleto de tipo latirano (Figura 58). Estas ciclizaciones fueron comprobadas computacionalmente. Aunque no se encontró la presencia de diterpenoides de tipo premirsinano y latirano en los extractos de la planta, no significa que no estén presentes, puede ser que se encuentren en poca cantidad respecto a otros metabolitos secundarios y

eso podría dificultar su aislamiento en los extractos de *J. dioica* tal como está reportado en otras plantas de la familia Euphorbiaceae, específicamente en *Euphorbia sogdiana* donde recuperaron 1.2 mg de un nuevo compuesto de tipo latirano esterificado a partir de 5.6 kg de planta seca.<sup>68</sup>



**Figura 58.** Diterpenoides derivados del casbano: inclusión de esqueletos de ciclojatrofano y riolozano

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES

1. Se comprobó por métodos computacionales una ruta biogenética de riolozatriona a partir del nuevo diterpenoide *2R iso-jatrofatriona*.
2. Se obtuvieron y caracterizaron por métodos espectroscópicos 6 compuestos, 3 de estos ya reportados en la literatura y los otros 3 son compuestos nuevos, uno con esqueleto de tipo riolozano y dos con esqueleto de tipo 9-13 ciclojatrofano.
3. Se demostró que el método de extracción influye en los componentes recuperados, con los resultados observados en este trabajo se propone que riolozatriona es un artefacto originado de la *6-epi-riolozatriona*.
4. Se evaluó la actividad anti-herpética de acuerdo al cálculo del índice de selectividad. La jatrofatriona presentó actividad antiviral similar al producto de la biogénesis con un índice de selectividad de 5.2 para el VHS-1. La

actividad de los diterpenos con esqueleto de tipo riolozano se ve afectada por la configuración y la conformación.

5. Se propuso la participación de enzimas citocromo P-450 en la formación de enlaces intramoleculares C-C en la hipótesis de biosíntesis de riolozatriona.

## CAPÍTULO 6

### PERSPECTIVAS

1. Evaluar otras rutas de biogénesis de riolozatriona mediante métodos computacionales.
2. Continuar con la búsqueda intermediarios de tipo premirsinano y latirano en los extractos de *Jatropha dioica*.
3. Evaluar experimentalmente si la biogénesis de citlalitriona, jatrofatriona y 2*S* *iso*-jatrofatriona está relacionada.
4. Desarrollar un método de separación de los epímeros 2*R* y 2*S* *iso*-jatrofatriona.
5. Diseñar experimentos para comprobar las transformaciones planteadas en el mecanismo II de biogénesis de riolozatriona.



6. Diseñar experimentos para confirmar que la riolozatriona es un artefacto formado en el proceso de extracción.

## CAPÍTULO 7

### BIBLIOGRAFÍA

1. Domínguez X. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. 4ta edició. México: Limusa; 1988, pp 45-47.
2. Marco J. *Química de Los Productos Naturales*. España: Editorial Síntesis; 2006 , pp 15-17.
3. Dewick P. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 3rd ed. United Kingdom: John Wiley & Sons; 2009, pp 7-10.
4. Newman, D. J., Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat Prod.* 2016. 79(3), pp 629-661.
5. Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG. Natural Products (Secondary Metabolites). In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R, eds. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologist; 2000, pp 1250-1318.
6. Devappa RK, Makkar HPS, Becker K. Jatropha Diterpenes: a Review. *J Am Oil Chem Soc.* 2011;88(3), pp 301-322.
7. Yadav N, Yadav R, Goyal A. Chemistry of Terpenoids. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2014;27(45), pp 272-278.
8. Breitmaier E. *Terpenes. Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*. Germany: Wiley-VCH; 2006, pp 68-73.
9. Barquera-Lozada, J. E., Cuevas, G. Computational Simulation of the Terminal Biogenesis of Sesquiterpenes: The Case of 8-Epiconfertifin. In Matta C. F, eds. *Quantum Biochemistry*. Wiley-VCH. 2010, pp. 623–642 .

10. Cheng A, Lou Y, Mao Y, Lu S, Wang L, Chen X. Plant Terpenoids : Biosynthesis and Ecological Functions. *J Integr Plant Biol.* 2007;49(2), pp 179-187.
11. Singh, B., & Sharma, R. a. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *3 Biotech.* 2015, 5, pp 129–151.
12. Oldfield E, Lin F-Y. Terpene biosynthesis: modularity rules. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012;51(5), pp 1124-1137.
13. Davis EM, Croteau R. Cyclization Enzymes in the Biosynthesis of Monoterpenes , Sesquiterpenes , and Diterpenes. In: *Topics in Current Chemistr.* Vol 209. Berlin: Springer-Verlag; 2000, pp 54-92.
14. Zwenger S, Basu C. Plant terpenoids: Applications and Potentials. *Biotechnol Mol Biol Rev.* 2008;3, pp 001-007.
15. Keeling CI. Plant terpenoids. In: Civjan N, ed. *Natural Products in Chemical Biology.* First Edit. John Wiley & Sons; 2012, pp127-142.
16. Gershenzon, J., Dudareva, N. The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology.* 2007, 3, pp 408–14.
17. Wang Y-F, Shi Q-W, Dong M, Kiyota H, Gu Y-C, Cong B. Natural taxanes: developments since 1828. *Chem Rev.* 2011;111(12), pp 7652-7709.
18. Raviña E. *The Evolution of Drug Discovery.*; 2011, pp137-139.
19. [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org)
20. Sabandar CW, Ahmat N, Jaafar FM, Sahidin I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. *Phytochemistry.* 2013;85, pp7-29.
21. Youssef, D. T. A., Yamaki, R. K., Kelly, M., Scheuer, P. J. Salmahyrtisol A, a novel cytotoxic sesterpene from the red sea sponge *Hyrtios erecta*. *J Nat Prod.* 2002, 18, pp 2–6.
22. Luna-Herrera, J., Costa, M. C., González, H. G., Rodrigues, A. I., Castilho, P. C. Synergistic antimycobacterial activities of sesquiterpene lactones from *Laurus* spp. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007, 59(3), pp 548–552.

23. Zhang M, Su X, Huo C, et al. Chemical Constituents of the Plants from Genus *Jatropha*. *Chem Biodiversity*. 2009;6, pp 2166-2183.
24. Ghirardo A. *Studies of Plant Terpenoid Biosynthesis Using <sup>13</sup>C Stable Isotope Labeling Techniques.*; 2010.
25. Kutrzeba, L., Dayan, F. E., Howell, J., Feng, J., Giner, J. L., Zjawiony, J. K. Biosynthesis of salvinorin A proceeds via the deoxyxylulose phosphate pathway. *Phytochemistry*. 2007,68(14), pp 1872–1881.
26. Barquera-Lozada E, Cuevas G. Role of Carbocation 's Flexibility in Sesquiterpene Biosynthesis : Computational Study of the Formation Mechanism of Terrecyclene. *J. Org. Chem.* 2011;6, pp 1572-1577.
27. Barquera-Lozada E, Cuevas G, Hart C. Biogenesis of Sesquiterpene Lactones Pseudoguaianolides from Germacranolides : Theoretical Study on the Reaction Mechanism of Terminal Biogenesis of 8-Epiconfertin. *J. Org. Chem.* 2009;7, pp 874-883.
28. Tantillo DJ. Biosynthesis via carbocations: theoretical studies on terpene formation. *Nat Prod Rep*. 2011;28, 6, pp1035-1053.
29. Young DC. *CHEMISTRY COMPUTATIONAL CHEMISTRY A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*. 2001, pp19-45.
30. Barba A, Duque MC., De la Cerda M. *Plantas Útiles de La Región Semiárida de Aguascalientes*. Universidad Autónoma de Aguascalientes; 2003, pp 133-134.
31. Dominguez X., Cano G, R F, A.M V, Watson WH, V Z. Riolozatrione, a new class of diterpene from *Jatropha dioica* var. *sessiliflora*. *Phytochemistry*. 1980;(7651), pp 2478.
32. Silva D, Torres E, Rivas A., Cordero P, Waksman N, Rivas V. Plants from northeast Mexico with anti-HSV activity. *Nat Prod Commun*. 2013;8, pp1-2.
33. Durán-Peña MJ, Botubol Ares JM, Collado IG, Hernández-Galán R. Biologically active diterpenes containing a gem-dimethylcyclopropane subunit: an intriguing source of PKC modulators. *Nat Prod Rep*. 2014;31,7, pp 940-952.
34. Torrance SJ, Wiedhopf RM, Cole JR. Antitumor Agents from *Jatropha macrorhiza* (Euphorbiaceae). II. Isolation and characterization of Jatrophatrione. *J Org Chem*. 1976;(I), pp 4-6.

35. Villarreal A.M., Dominguez X.A., Williams H.J., Scott A.I. R.J. Citlaltione, a new diterpene from. *J Nat Prod.* 1988;54, pp 749-753.
36. Matsuura, T., Terada, Y., Yamamura, S. Efforts towards the synthesis of jatratholane diterpenes: A biomimetic transannular reaction approach. *Tetrahedron Letters*, 2001,42(25), pp 4163–4165
37. Wang, J., Cole, K. P., Wei, L., Zehnder, L. R., & Hsung, R. P. (2003). An unexpected retro-aldol – aldol in the AB-ring in the synthesis of (±)-arisugacin A. *Tetrahedron Letters*, 2002 ,43, pp 3337–3340.
38. Vasas A, Hohmann J. Euphorbia Diterpenes : Isolation , Structure , Biological Activity , and Synthesis ( 2008 – 2012 ). *J Am Chem Soc.* 2014;114, pp 8579-8612.
39. Vasas A, Rédei D, Csupor D, Molnár J, Hohmann J. Diterpenes from European Euphorbia Species Serving as Prototypes for Natural-Product-Based Drug Discovery. *Eur J Org Chem.* 2012;(27), pp 5115-5130.
40. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival : Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J Immunol Methods.*1983;65, pp 55-63.
41. Hong, Y. J., Tantillo, D. J. The taxadiene-forming carbocation cascade. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133(45), pp 18249–18256.
42. Baptista, L., Fernandes F. L., Dias, J. F., da Silva, E. C., Ferreira dos Santos, C. V., Gil de Mendonça, F. S., Arbilla, G. Theoretical study of  $\Delta$ -3-(+)-carene oxidation. *Physical Chemistry Chemical Physics.* 2014. 16(36), pp 19376-19385.
43. Wang, L., Chen, X., Sun, W., Liang, J., Xu, X., Tong, Z. Kinetic model for the catalytic disproportionation of pine oleoresin over Pd/C catalyst. *Industrial Crops and Products.* 2013. 49, pp 1–9.
44. Rontein D1, Onillon S, Herbette G, Lesot A, Werck-Reichhart D, Sallaud C, T. A. CYP725A4 from yew catalyzes complex structural rearrangement of taxa-4(5),11(12)-diene into the cyclic ether 5(12)-oxa-3(11)-cyclotaxane. *J Biol Chem.* 2008. 283 (10), pp 6067–6075.
45. Rahmani, M., Ismail, H. M. Jatrolon A danJatrolatrin: Dna Diterpena dariJatropha gossypifolia. *Pertanika*, 1990, 13(3), pp 405–40.

46. Reis, M. A., André, V., Duarte, M. T., Lage, H., & Ferreira, M. J. U. (2015). 12,17-Cyclojatrophane and Jatrophane Constituents of *Euphorbia welwitschii*. *Journal of Natural Products*, 78(11), pp 2684–2690.
47. Watson, W., Zabel, V. Rioloatrione. *Acta Cryst.* 1982, B38, pp 689–691.
48. Cuthbertson, J. D., Unsworth, W. P., Moody, C. L., Taylor, R. J. K. The total synthesis of (+)-elaekanidine A: Natural product or isolation artefact? *Tetrahedron Letters*, 2015, 56(23), pp 3123–3126.
49. Maltese F, van der Kooy F, V. R. Solvent derived artifacts in natural products chemistry. *Nat Prod Commun*, 2009,4(3), pp 447–454.
50. Wanger U; Kratky Ch . *Progress in chemistry of organic natural products*. (Kinghorn A.D; Falk H; Kobayashi J, eds; 2015. Switzerland: Springer.
51. Flack H.D, B. G. (2008). The use of X-ray crystallography to determine absolute configuration. *Chirality*, 20, pp 681–690.
52. Taniguchi, T., Monde, K. Exciton Chirality Method in Vibrational Circular Dichroism. *J. Ame Cheml Soc.*, 2012, 134, pp 3695–3698.
53. Sánchez-castellanos, M., Bucio, M. A., Hernández-barragán, A., Joseph-nathan, P., Cuevas, G., & Quijano, L. (2015). Vibrational Circular Dichroism ( VCD ), VCD Exciton Coupling , and X- ray Determination of the Absolute Configuration of an  $\alpha$  ,  $\beta$  -Unsaturated Germacranolide. *Chirality*, 2015,(27), pp 247–252.
54. Kupchan, S. M., Sigel, C. W., Matz, M. J., Gilmore, C. J., & Bryan, R. F. Tumor inhibitors. 111. Structure and stereochemistry of jatrophane, a novel macrocyclic diterpenoid tumor inhibitor. *J Am Chem Soc.* 1976. 98(8), pp 2295–2300.
55. Silva-Belmares, Y., Rivas-Morales, C., Viveros-Valdez, E., de la Cruz-Galicia, M. G., & Carranza-Rosales, P. Antimicrobial and Cytotoxic Activities from *Jatropha dioica* Roots. *Pakistan J Biol Sci.* 2013 17, pp 748–750.
56. Bucher, C. Antiviral activity of cyclopentene nitro-ester and derivatives. US 8,318, 804 B2. USA. 2012.
57. Armaka M. Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex type 1. *Antiviral Res.* 1999, 43, pp 79-92.
58. Astani A. Comparative study on antiviral activity of selected monoterpenes derivated from essential oils. *Phytother. Res.*. 2010. 24, pp 673-679.

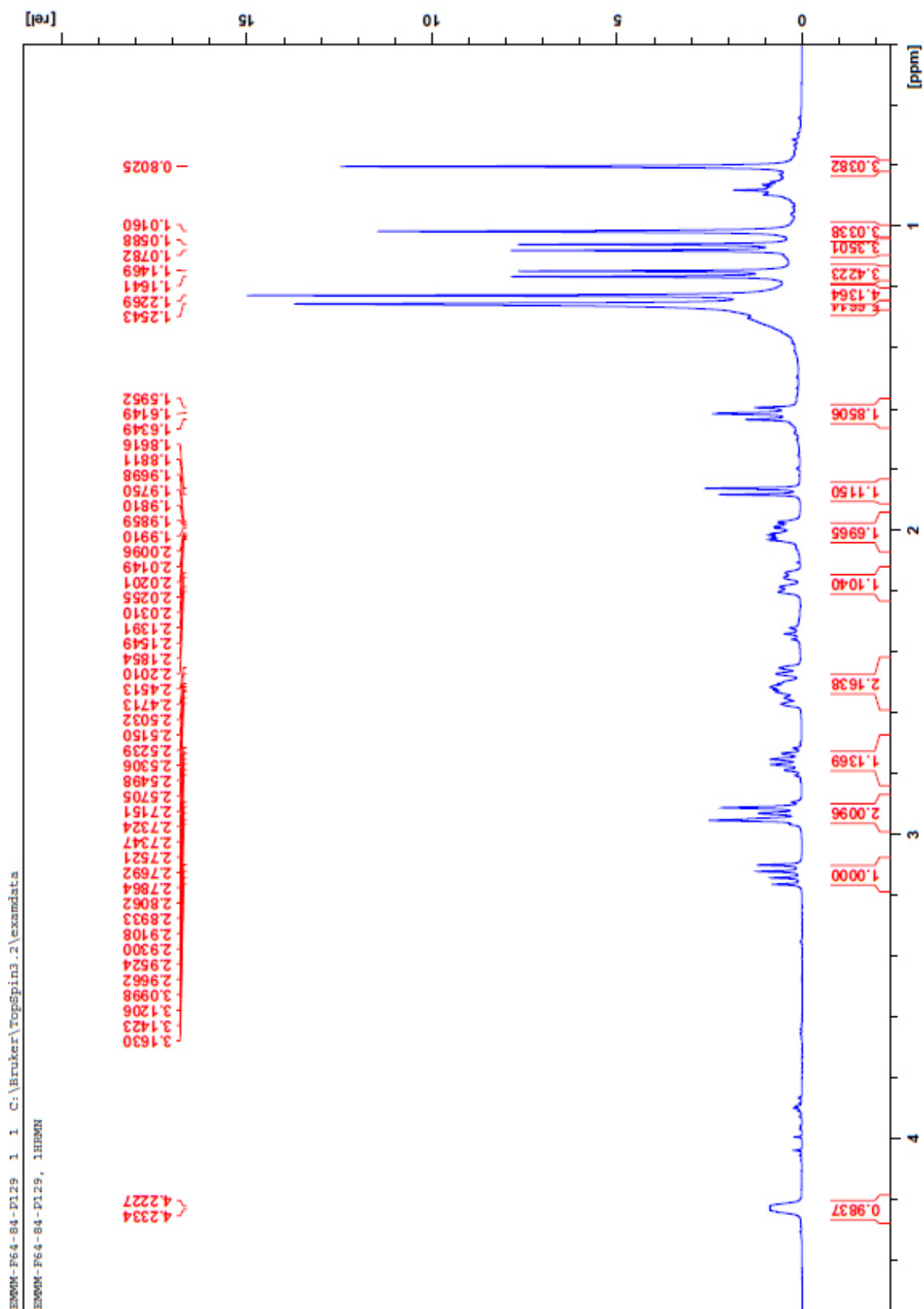


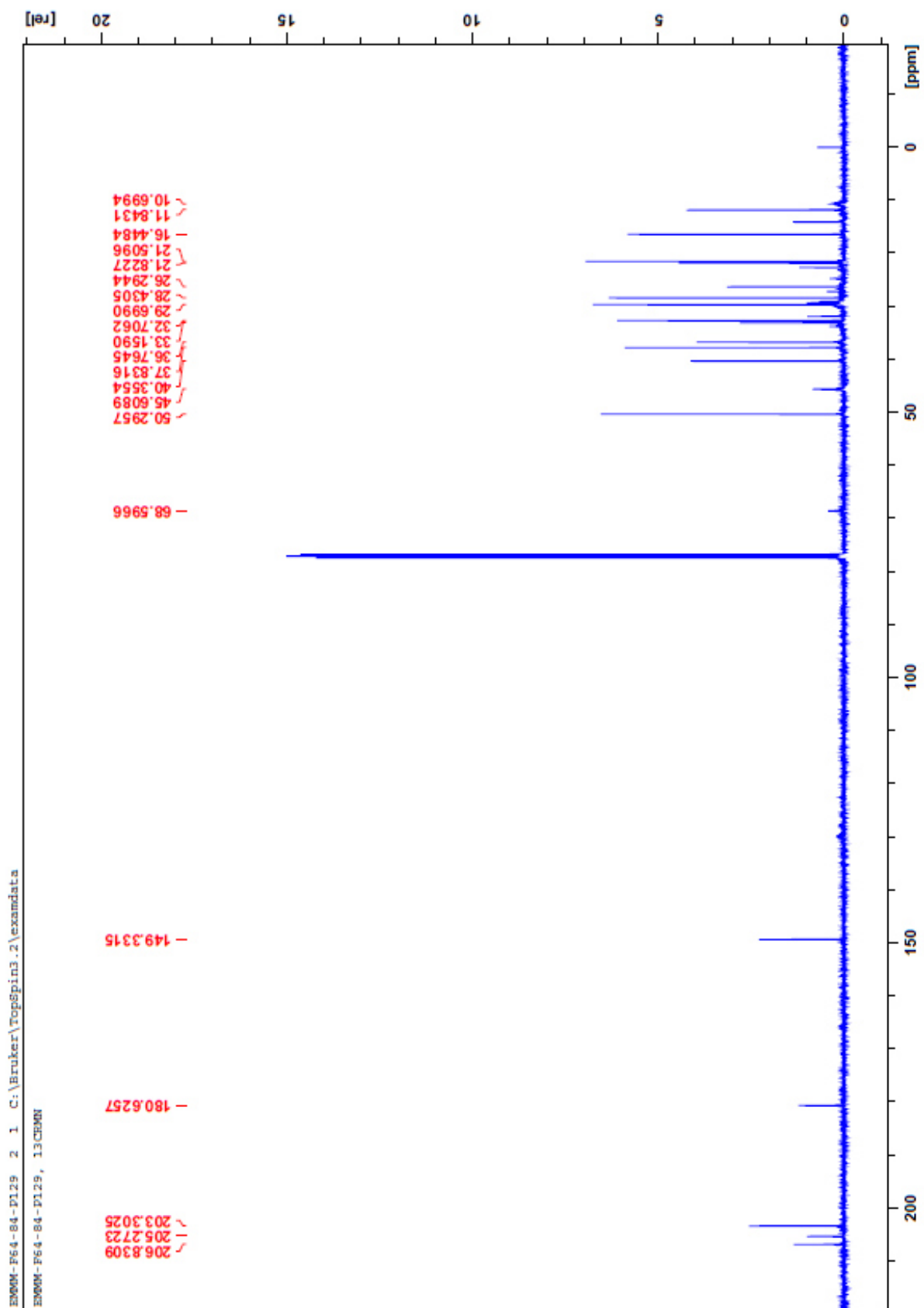
59. Hayashi K. Characterization of antiviral activity of a sesquiterpene triptofordin C-2. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996, 37, pp 759-768.
60. Betancur L; Zuluaga C; Arnó M; González M.A; Zaragoza R.J. Cytotoxic effect (on tumor cells) and in vitro antiviral activity against herpes simplex virus of synthetic spongiane diterpenes. *J Nat Prod.* 2002, 65, pp 189-192.
61. Kurokawa M. Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* in vitro and in vivo. *J. Pharm. Exp. Ther.* 1999, 289, pp 72-78.
62. Utsunomiya T. Glycyrrhizin (20-beta-carboxy-11-oxo-30-norolean-12-en-3-beta-yl-2-O-beta-D-glucopyranuronosyl-alpha-D-glucopyranosiduronic acid) improves mice to opportunistic infection of herpes simplex virus type 1. *Immunol. Lett.* 1995, 44, pp 59-66
63. Bueno, C. A., Michelini, F. M., Pertino, M. W., Gómez, C. A., Schmeda-Hirschmann, G., Alché, L. E. Natural and semisynthetic diterpenoids with antiviral and immunomodulatory activities block the ERK signaling pathway. *Med. Microbiol. Immun.* 2014. 204(5), pp 575–584.
64. Sato, C. and et al. Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. *DNA Res*, 2011, 18, pp 65–76.
65. Nakano, Y., Ohtani, M., Polsri, W., Usami, T., Sambongi, K., Demura, T.. Characterization of the casbene synthase homolog from *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.). *Plant Biotechnology*, 2012, 29(2), pp 185–189.
66. Mizutni, M. Impacts of diversification of cytochrome P450 on plant metabolism. *Biol Pharm Bull.* 2012, 35(6), pp 824–832.
67. Andrew J King, Yi Li, I. A. G. Profiling the Developing *Jatropha curcas* L. Seed Transcriptome by Pyrosequencing. *BioEnergy Research*, 2011, 4, pp 211–221.
68. Zeinab, Y., Mustafa, G., Behzad, Z., Virginia, L. 6(17)-Epoxyathyrane diterpenes from *Euphorbia sogdiana* Popov with cytotoxic activity. *Fitoterapia.* 2016, 108, pp 87–92.

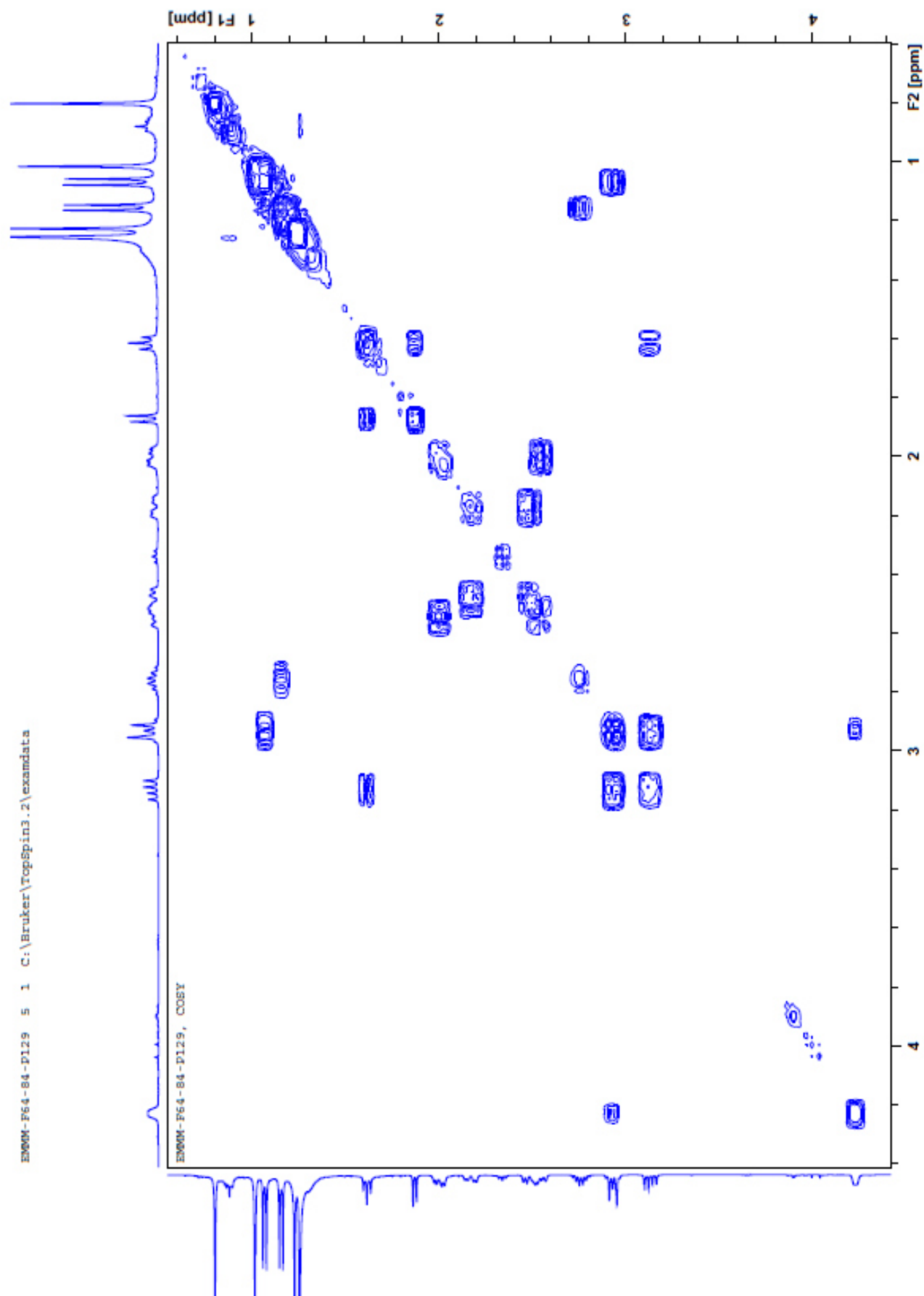
## CAPÍTULO 8

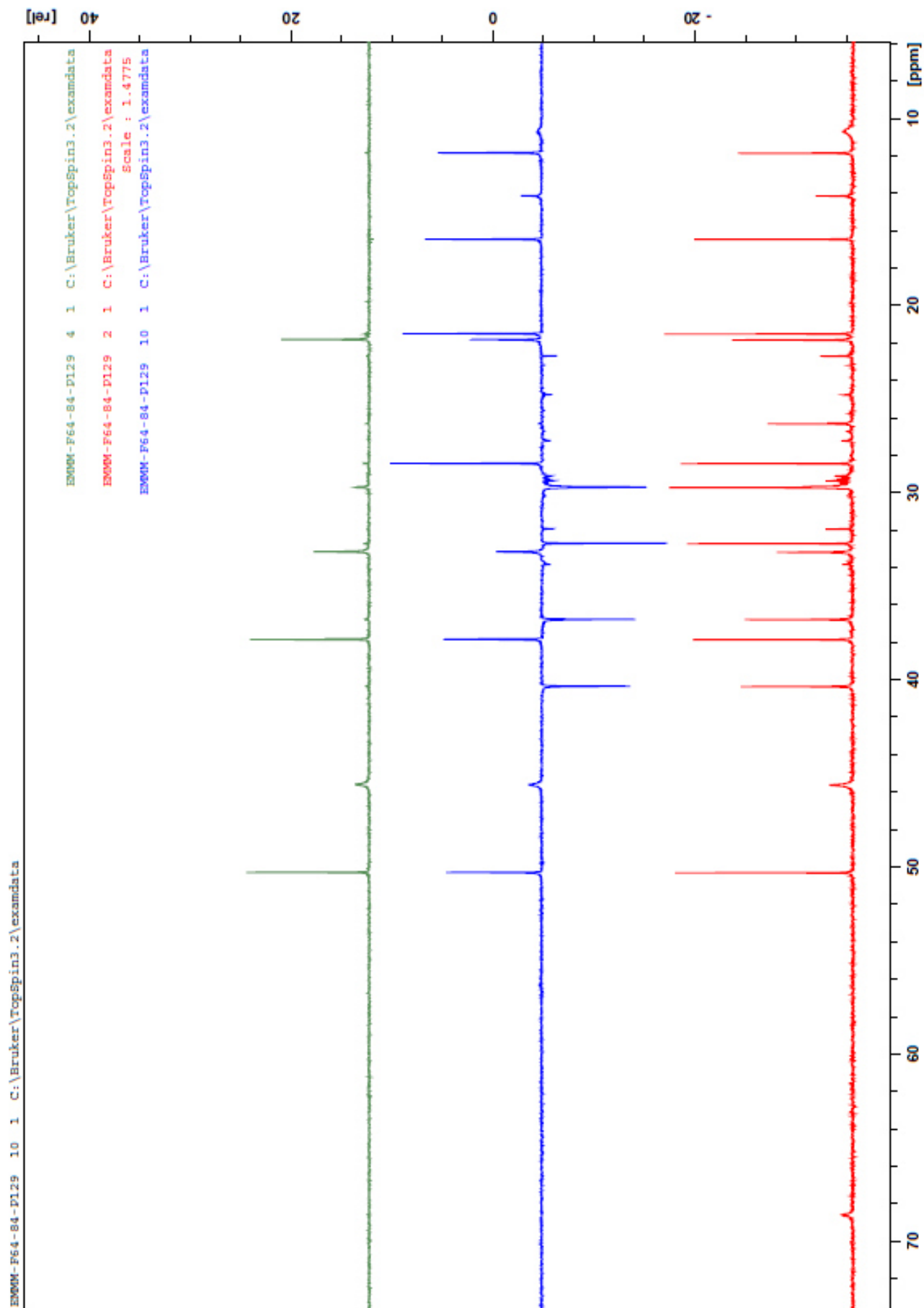
### APÉNDICE

#### 8.1 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de 6-*epi*-riolozatriona en CDCl<sub>3</sub> 400 MHz

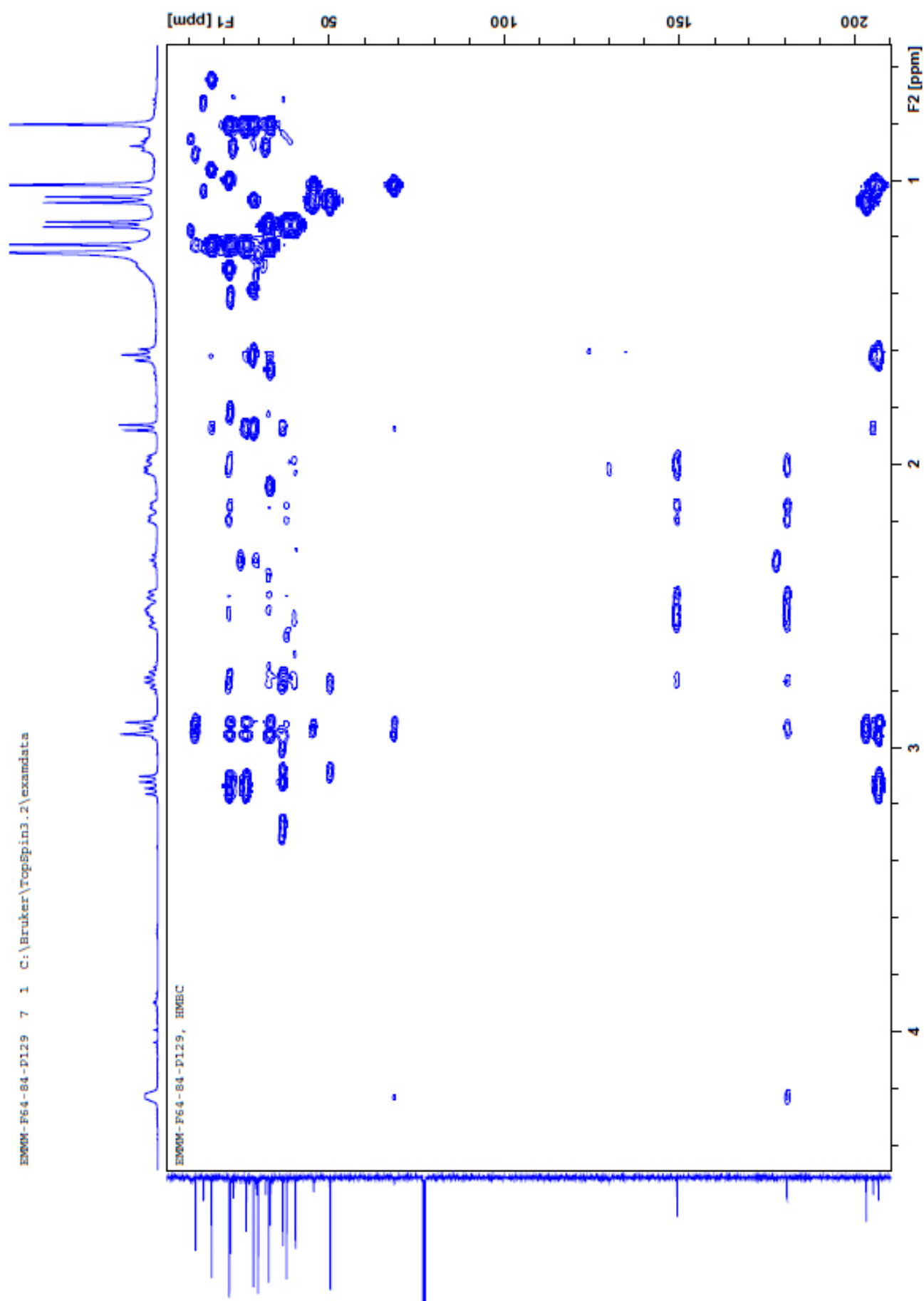


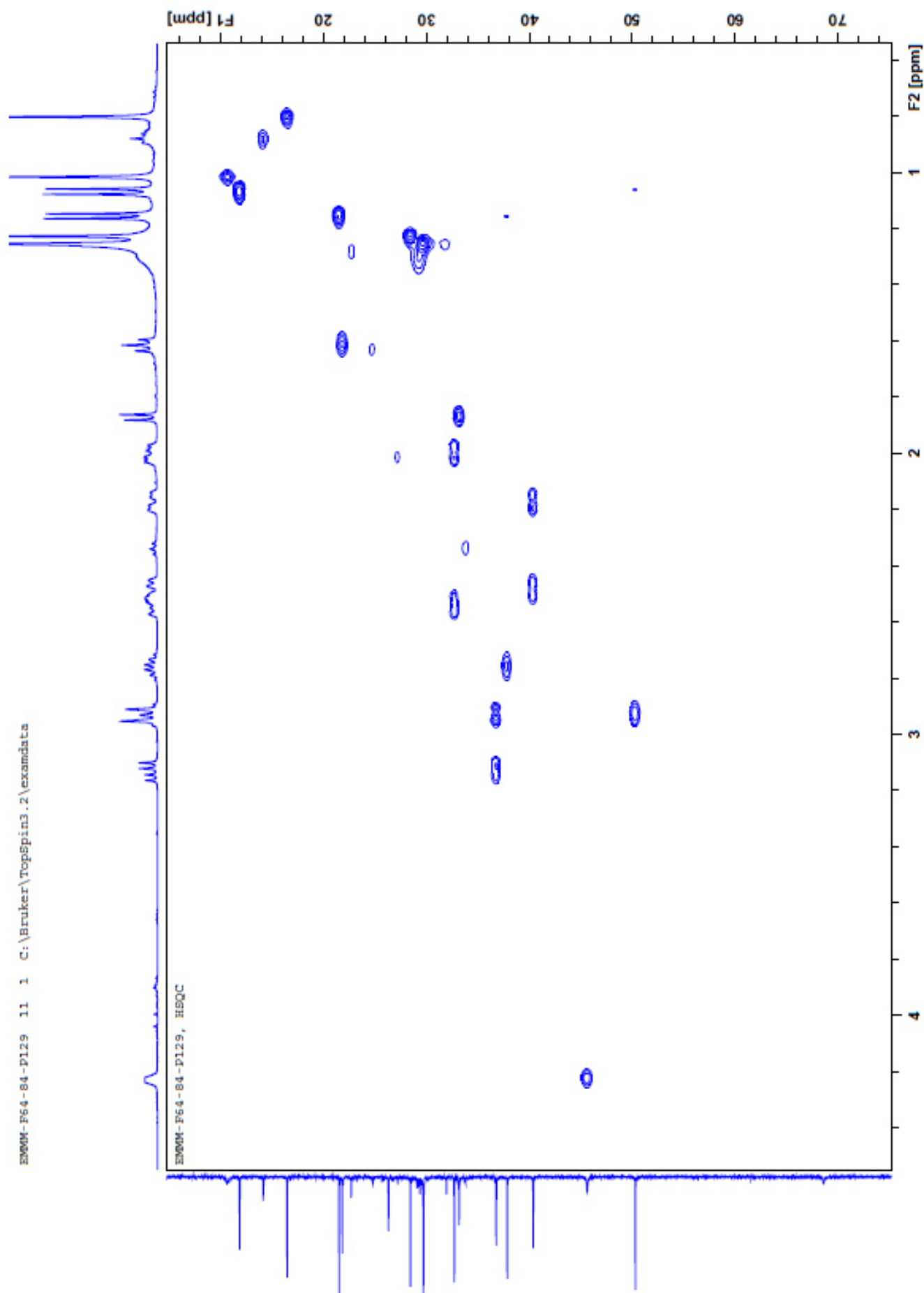


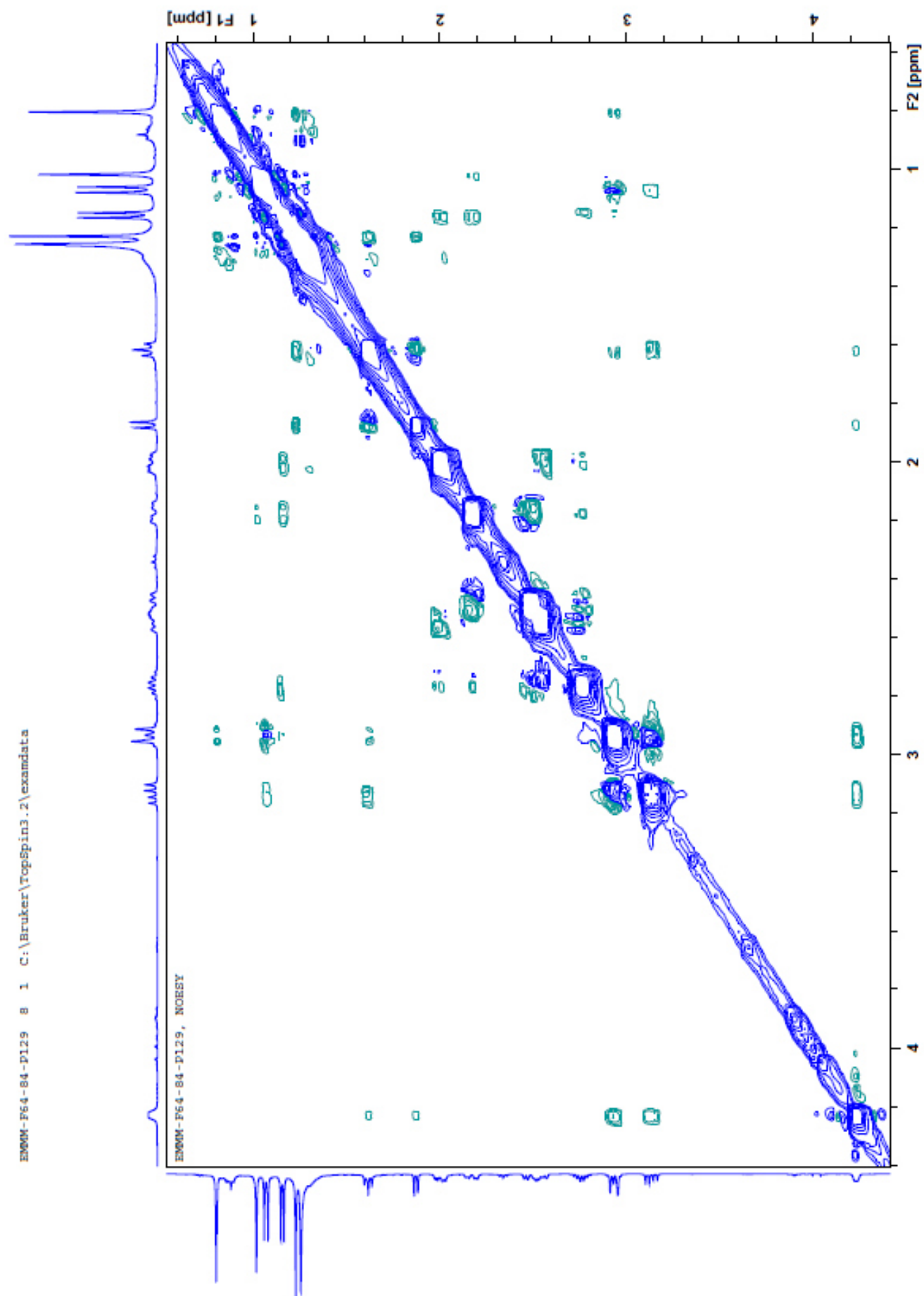




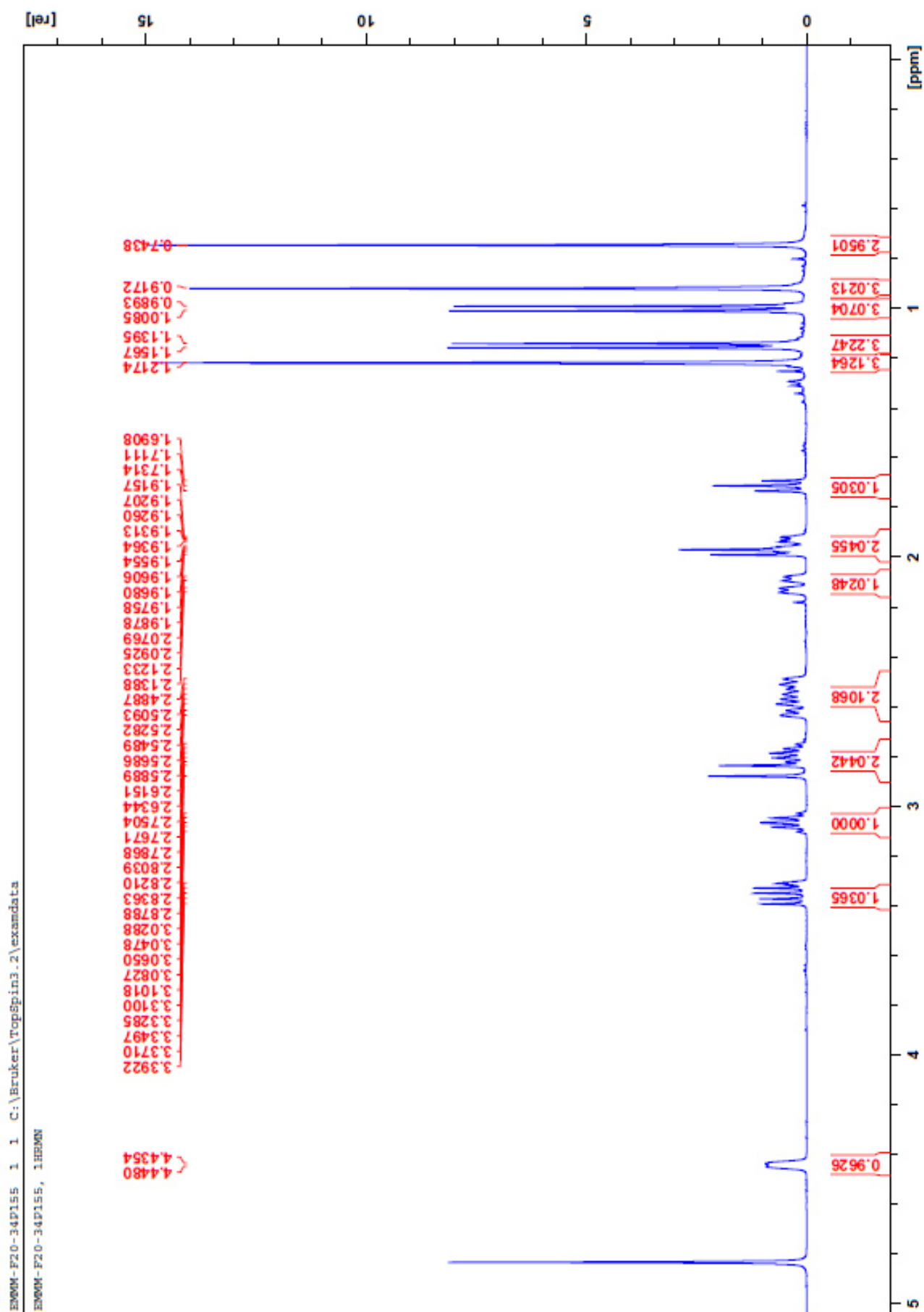


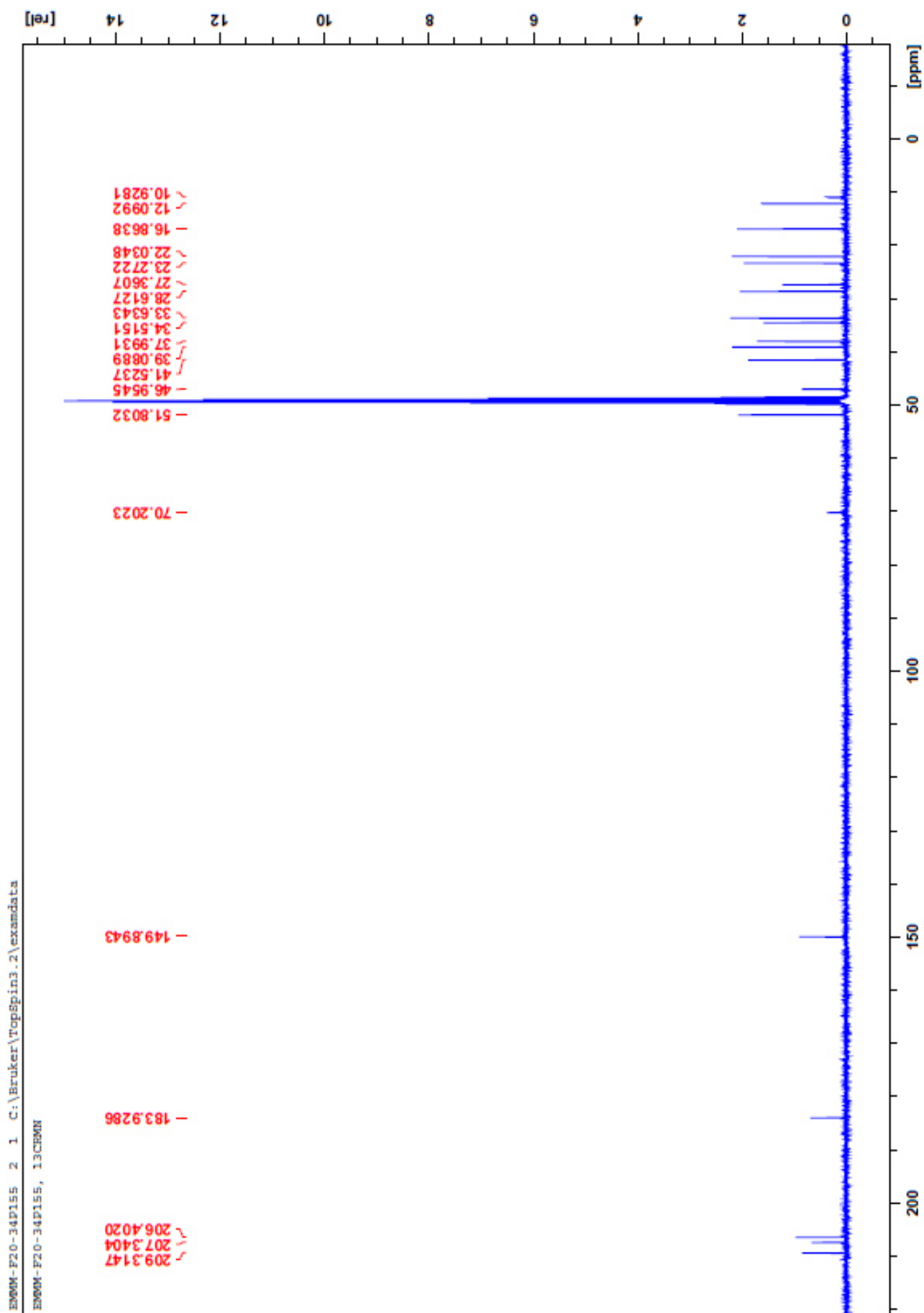




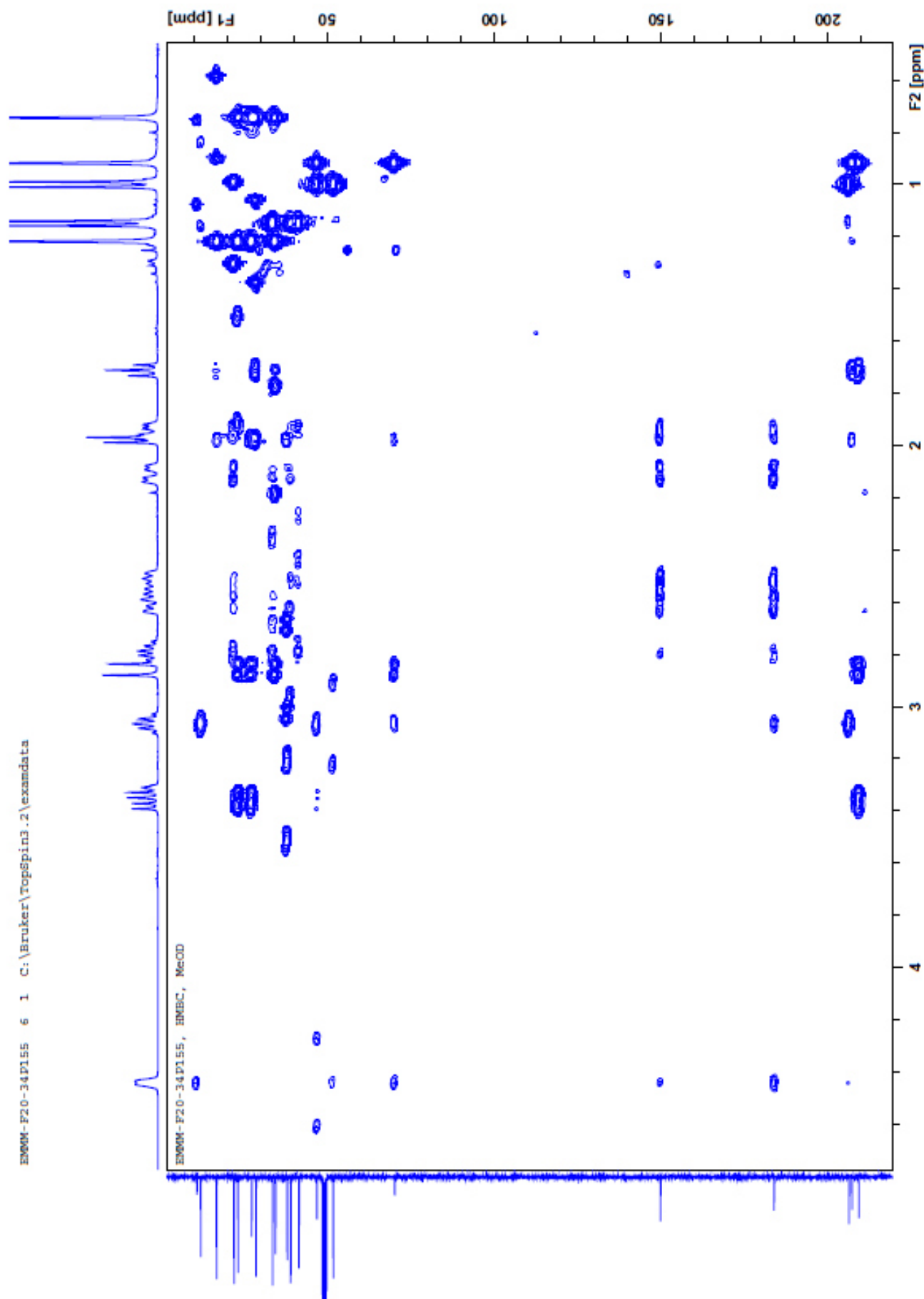


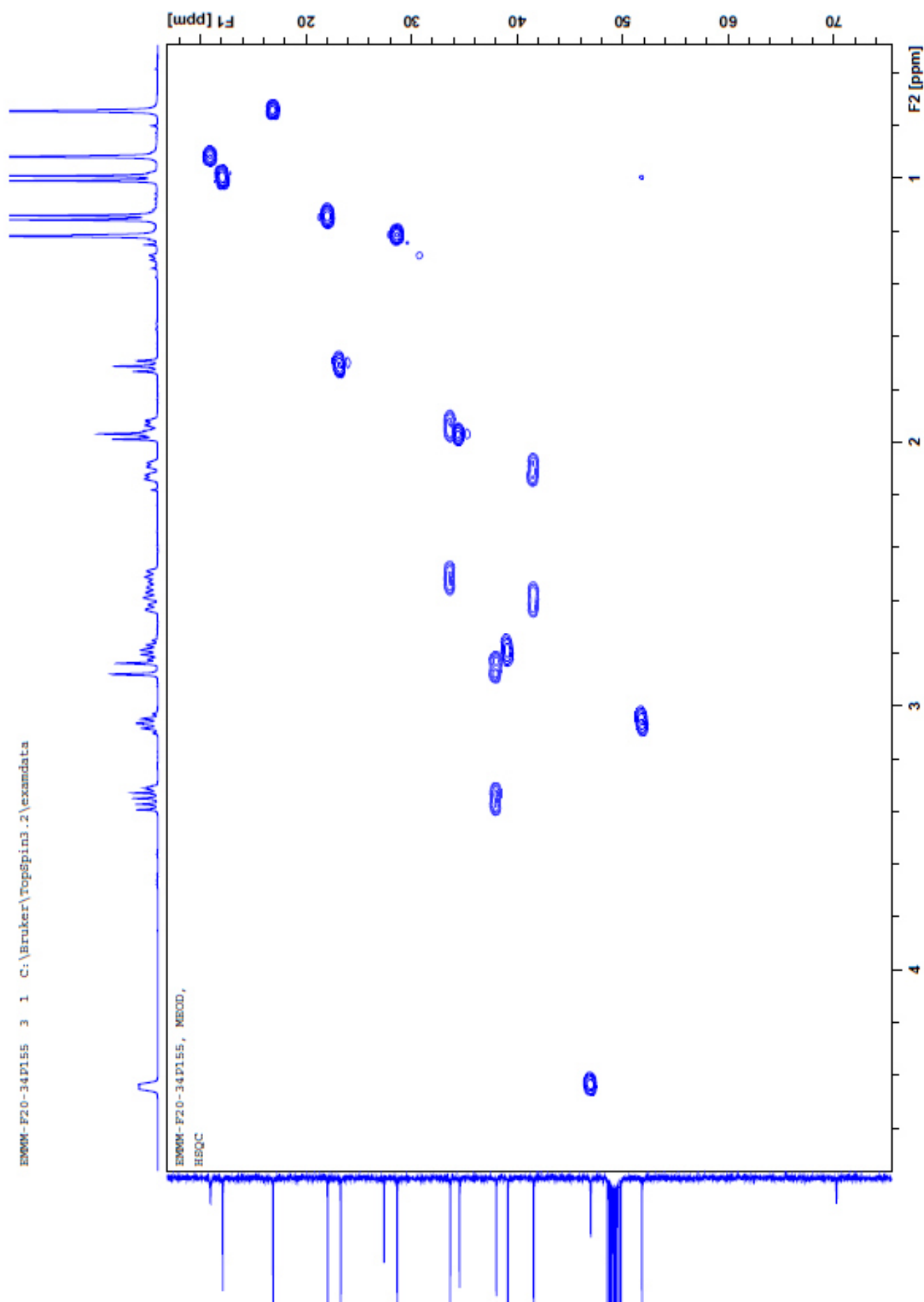
## **8.2 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de 6-*epi*-riolozatriona en Metanol-*d*4 400 MHz**



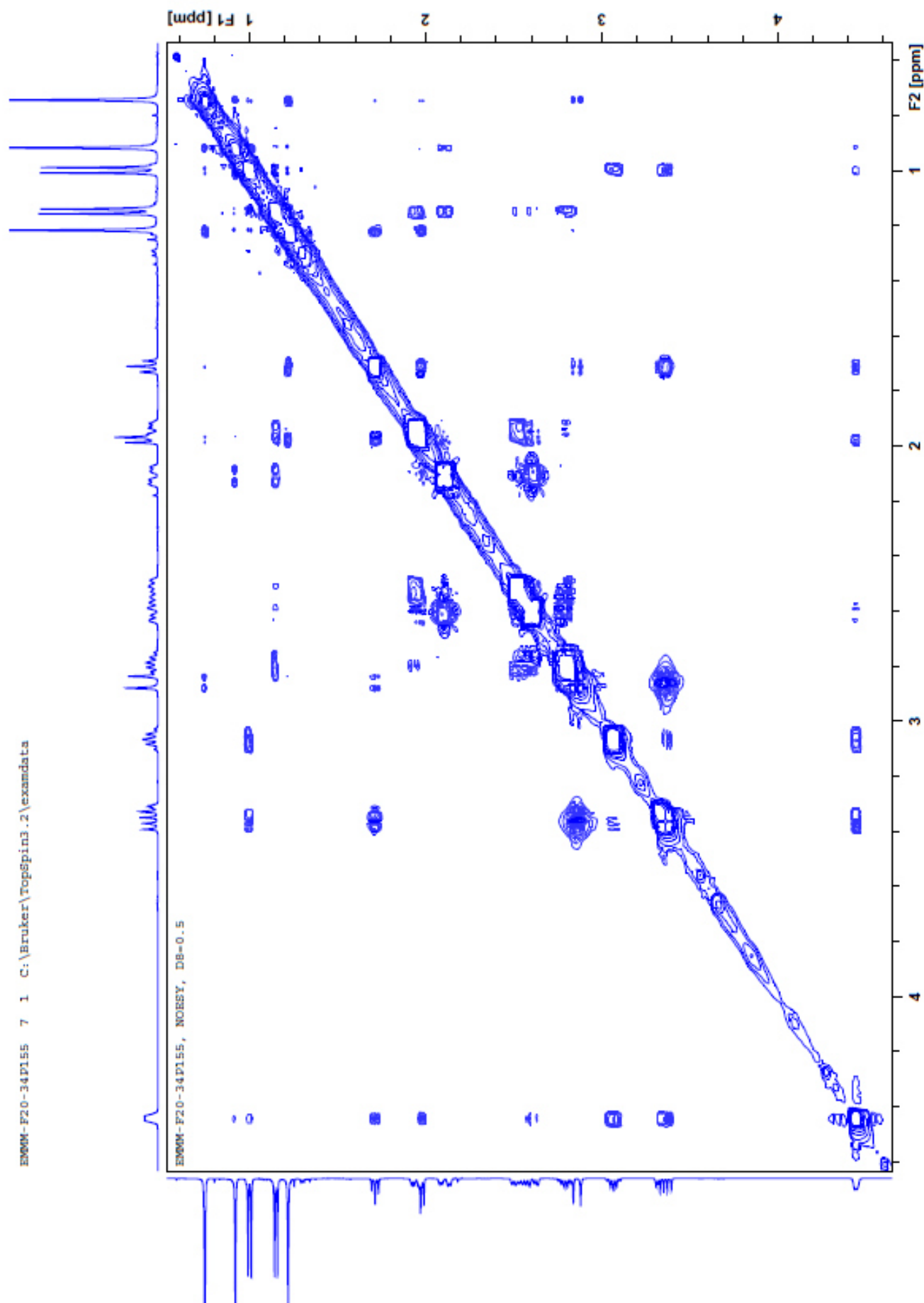




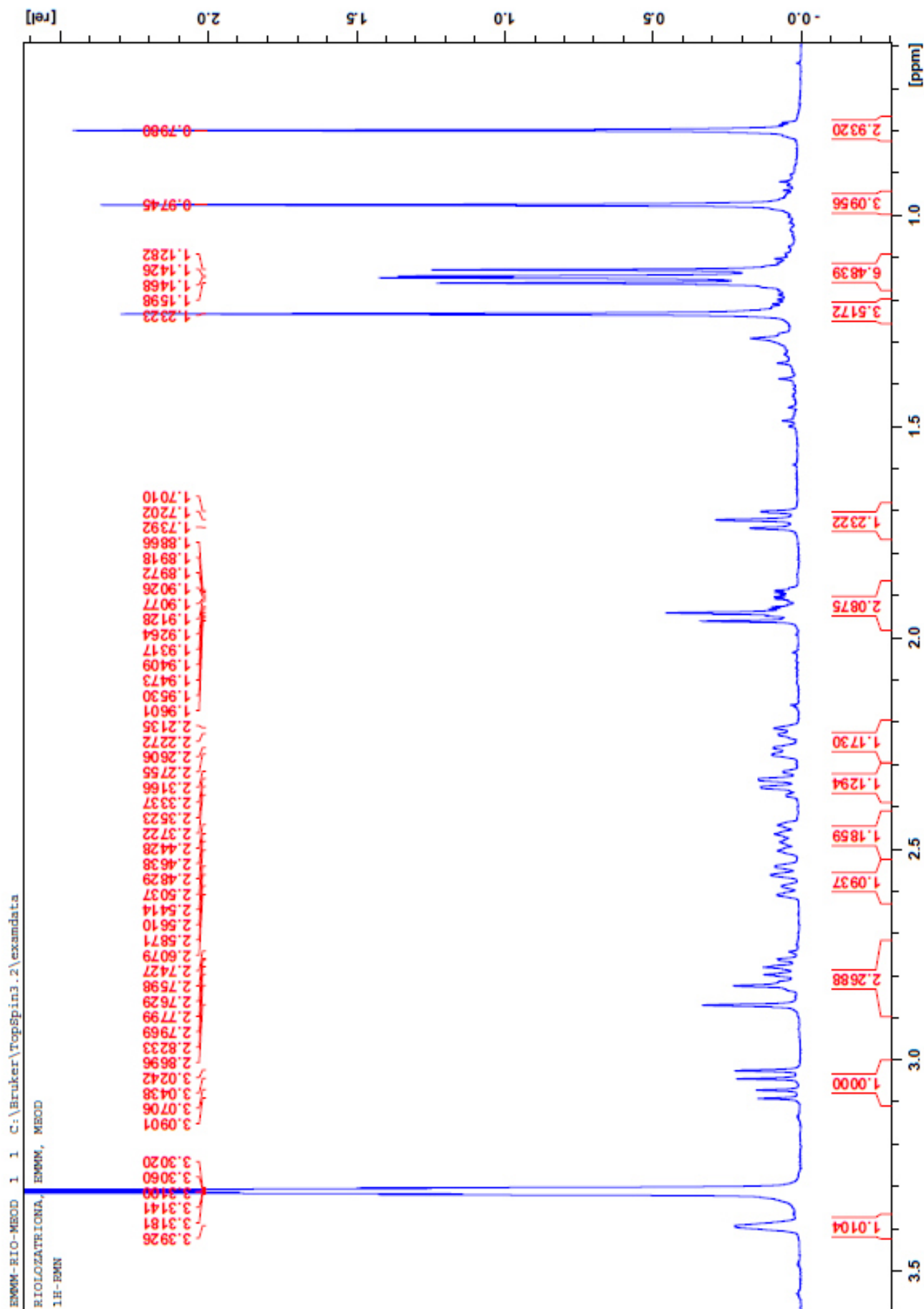


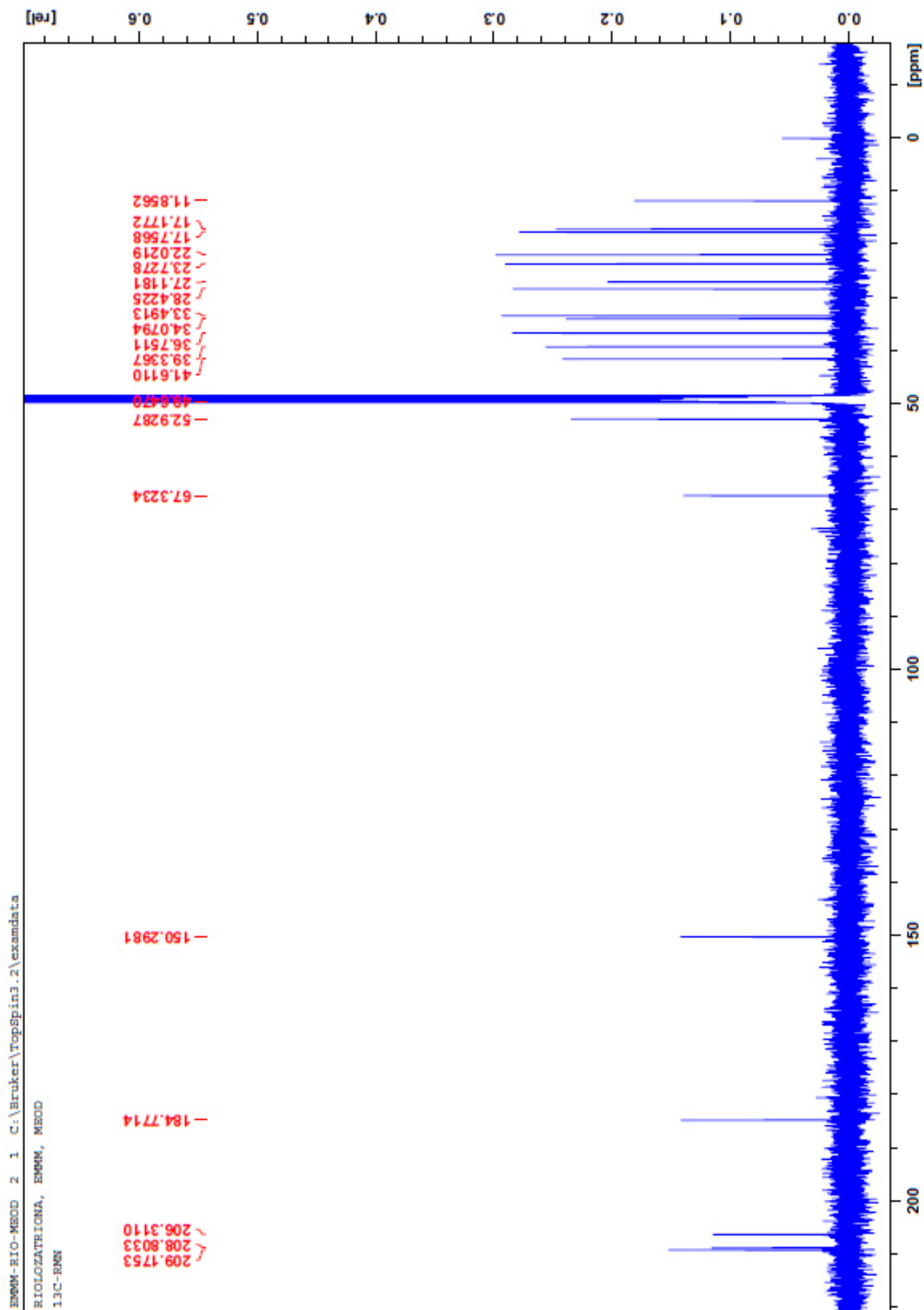


EX004-F20-34P155 7 1 C:\Bruker\TopSpin3.2\exandata

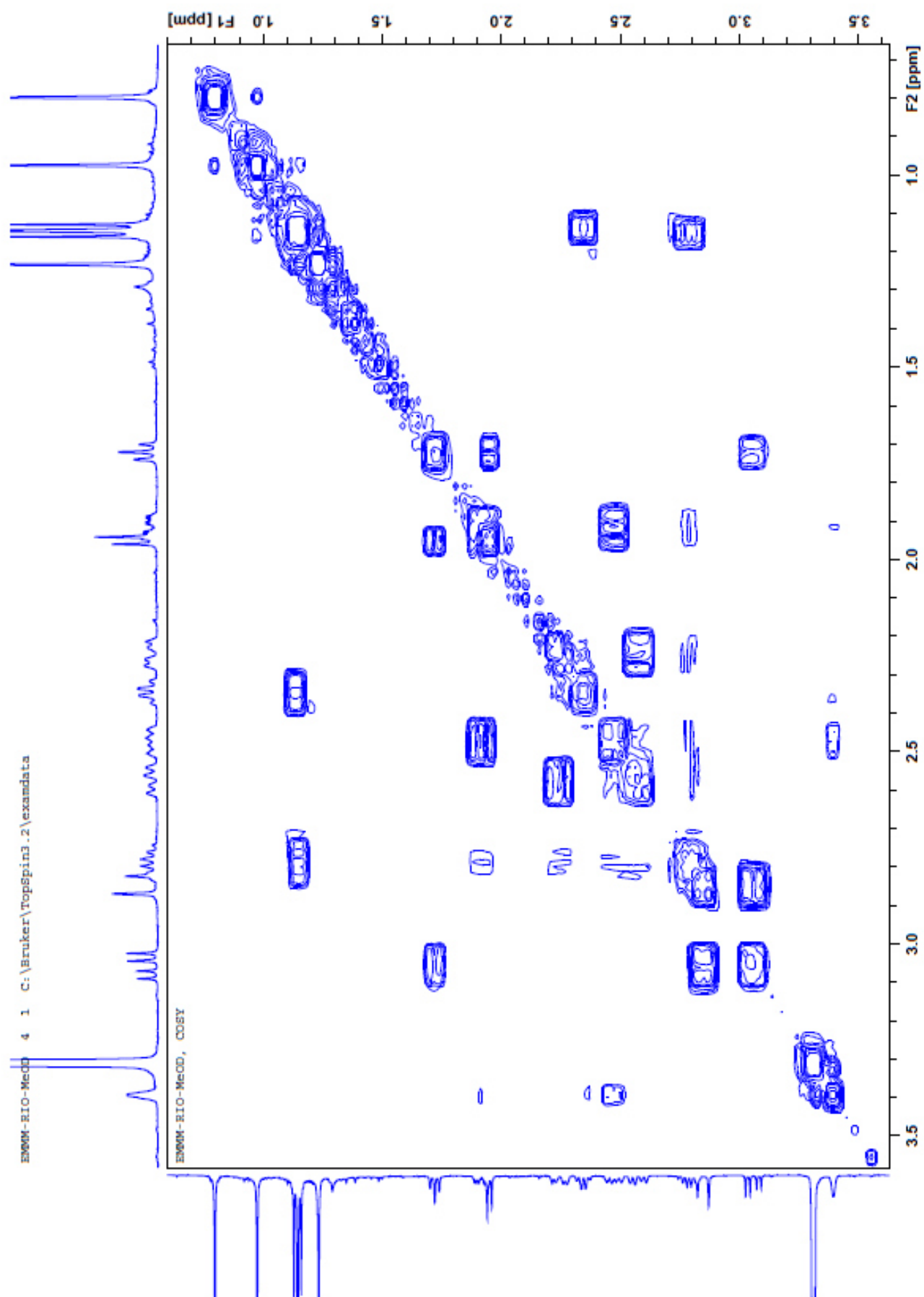


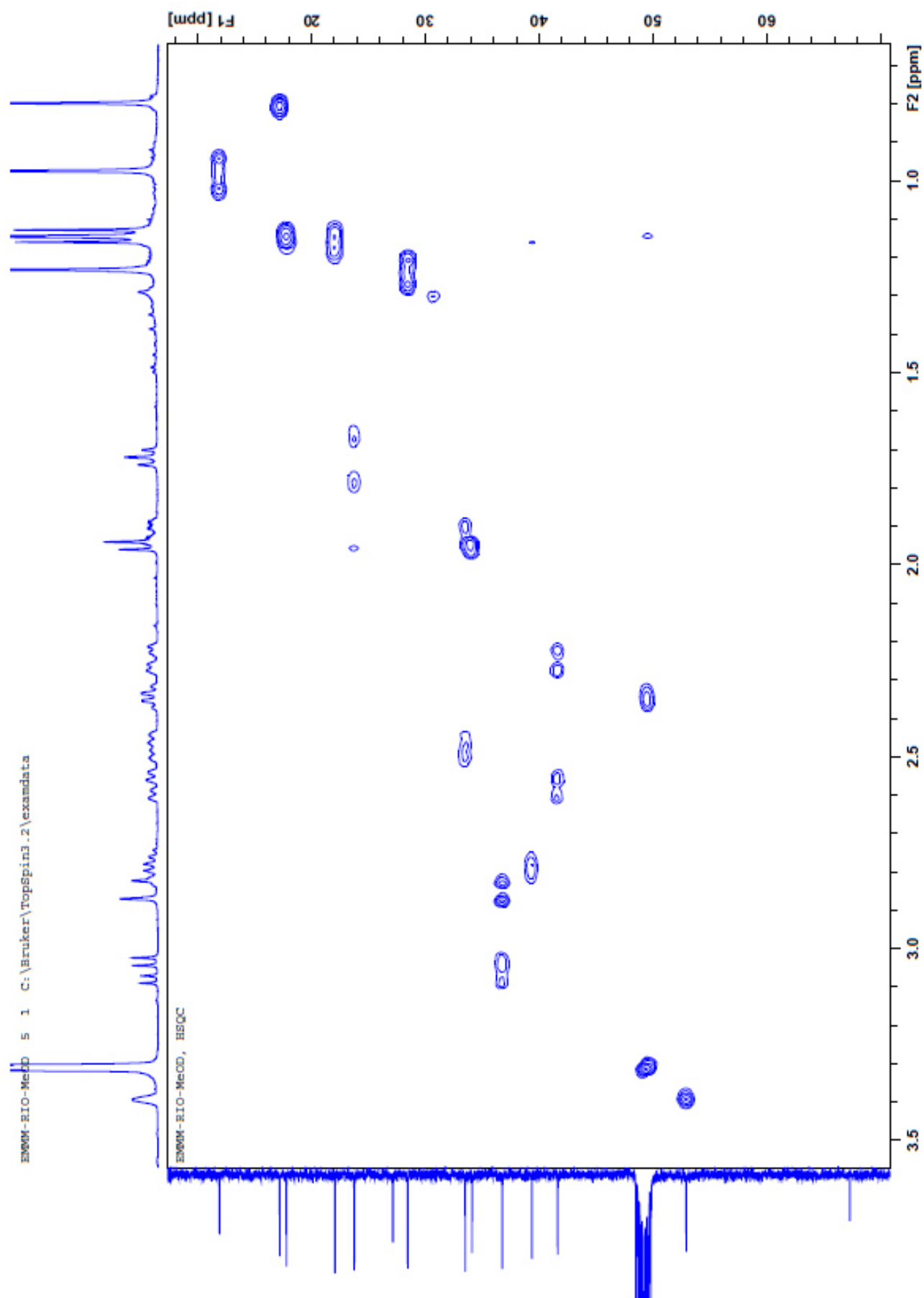
### **8.3 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de riolozatriona en Metanol-*d*4 400 MHz**



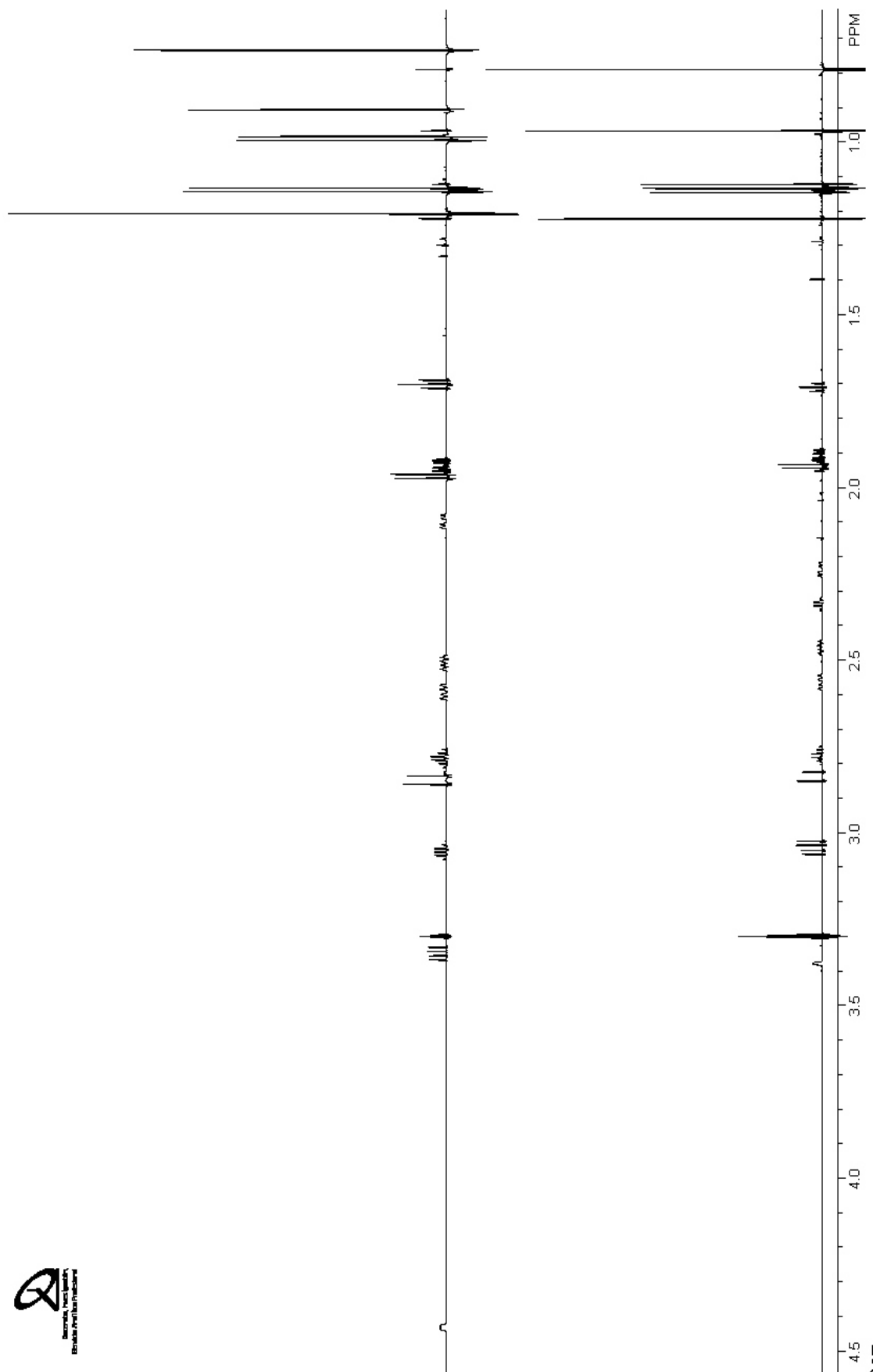


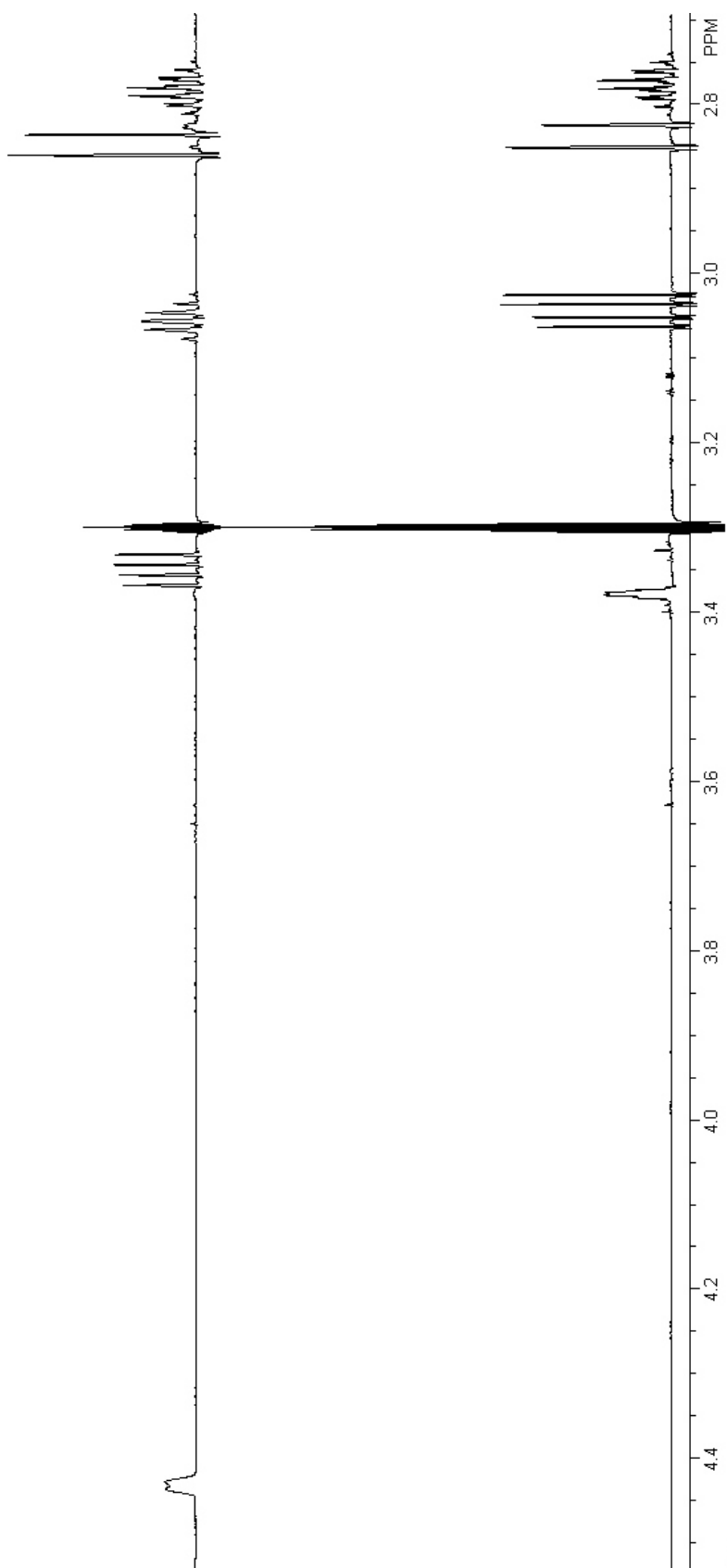




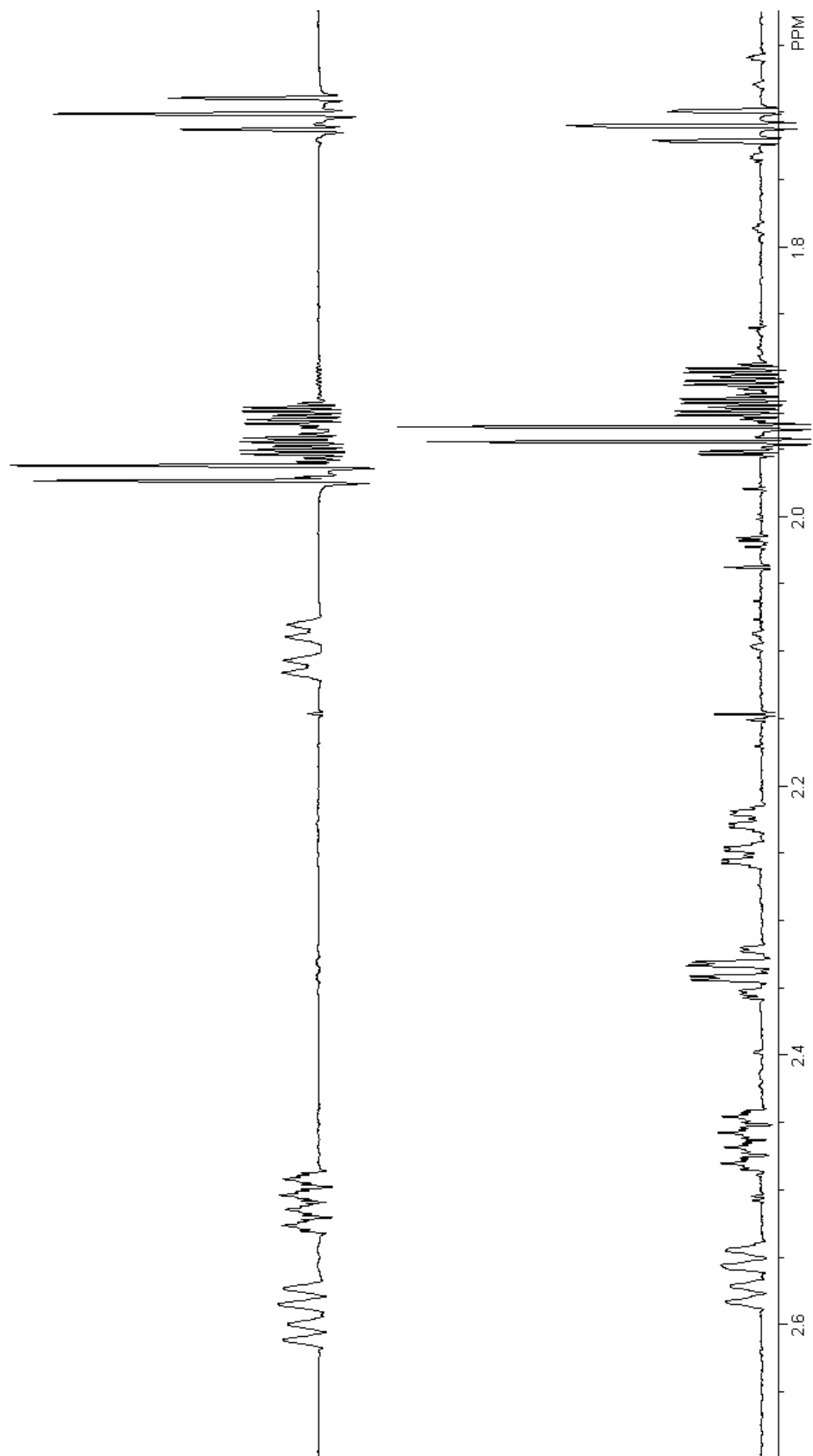


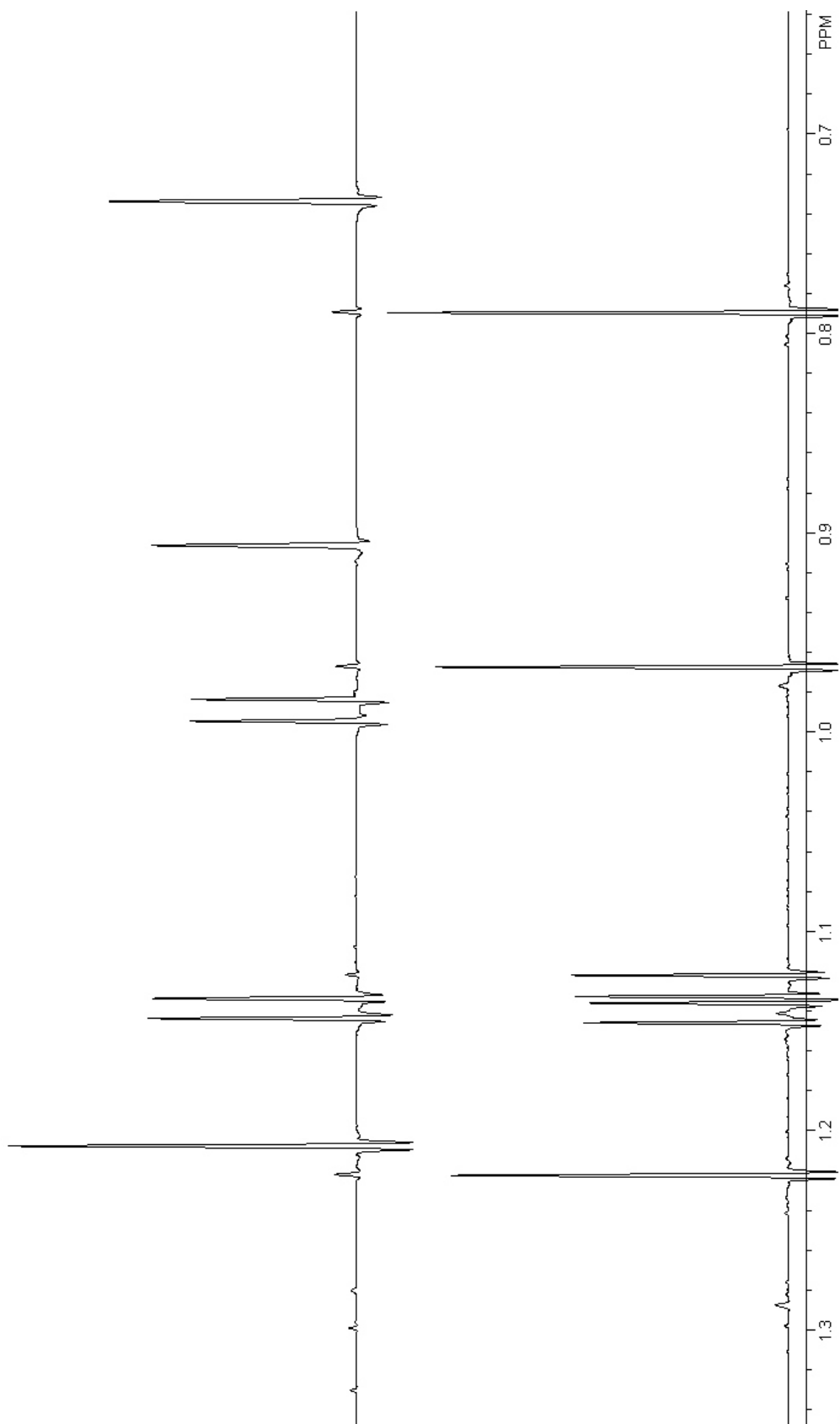
#### **8.4 Comparación de Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de 6-*epi*-riolozatriona y riolozatriona en Metanol-*d*4 700 MHz procesados con NUTS**





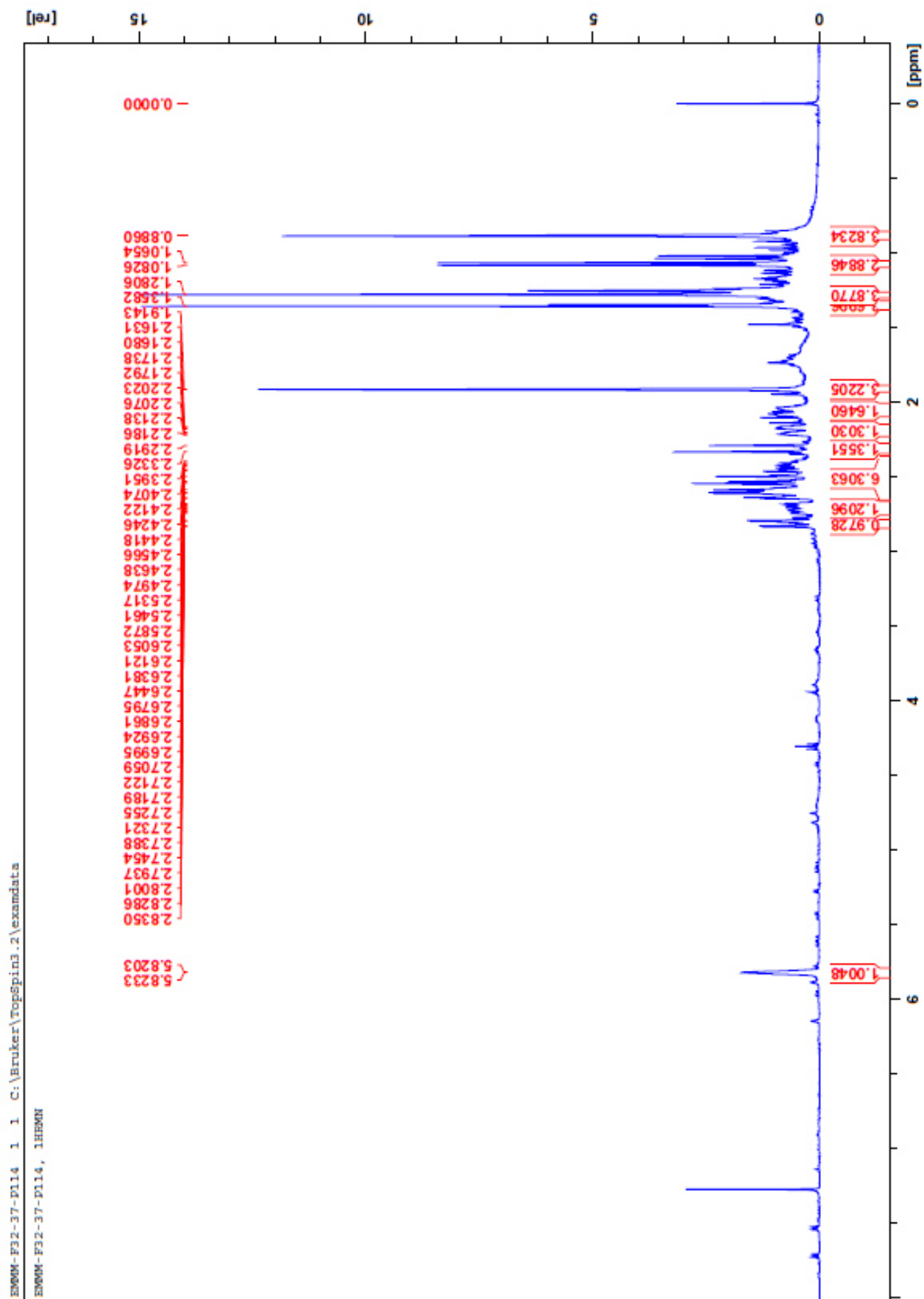
6

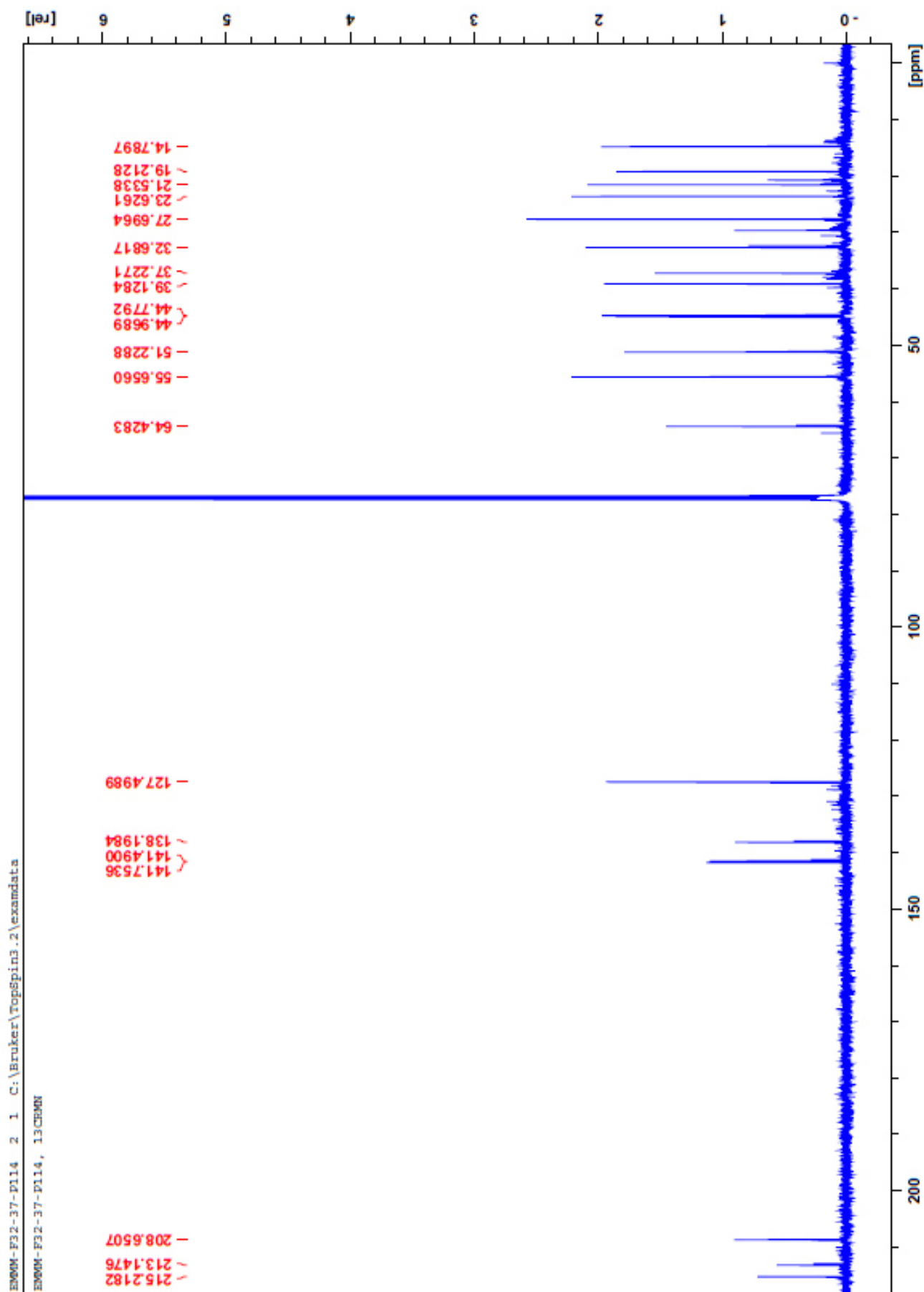
J  
200 MHz  
DMSO-d<sub>6</sub>

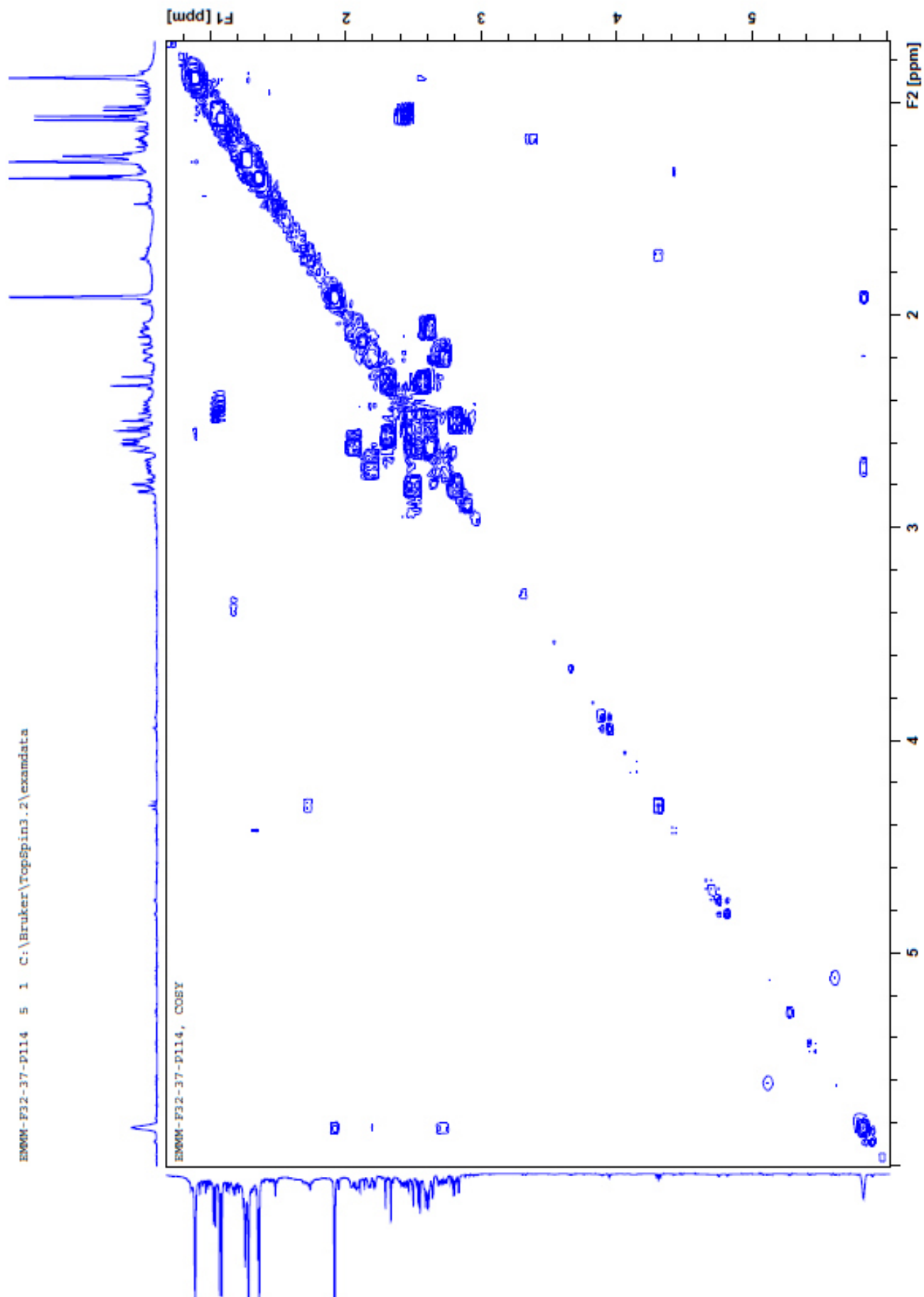


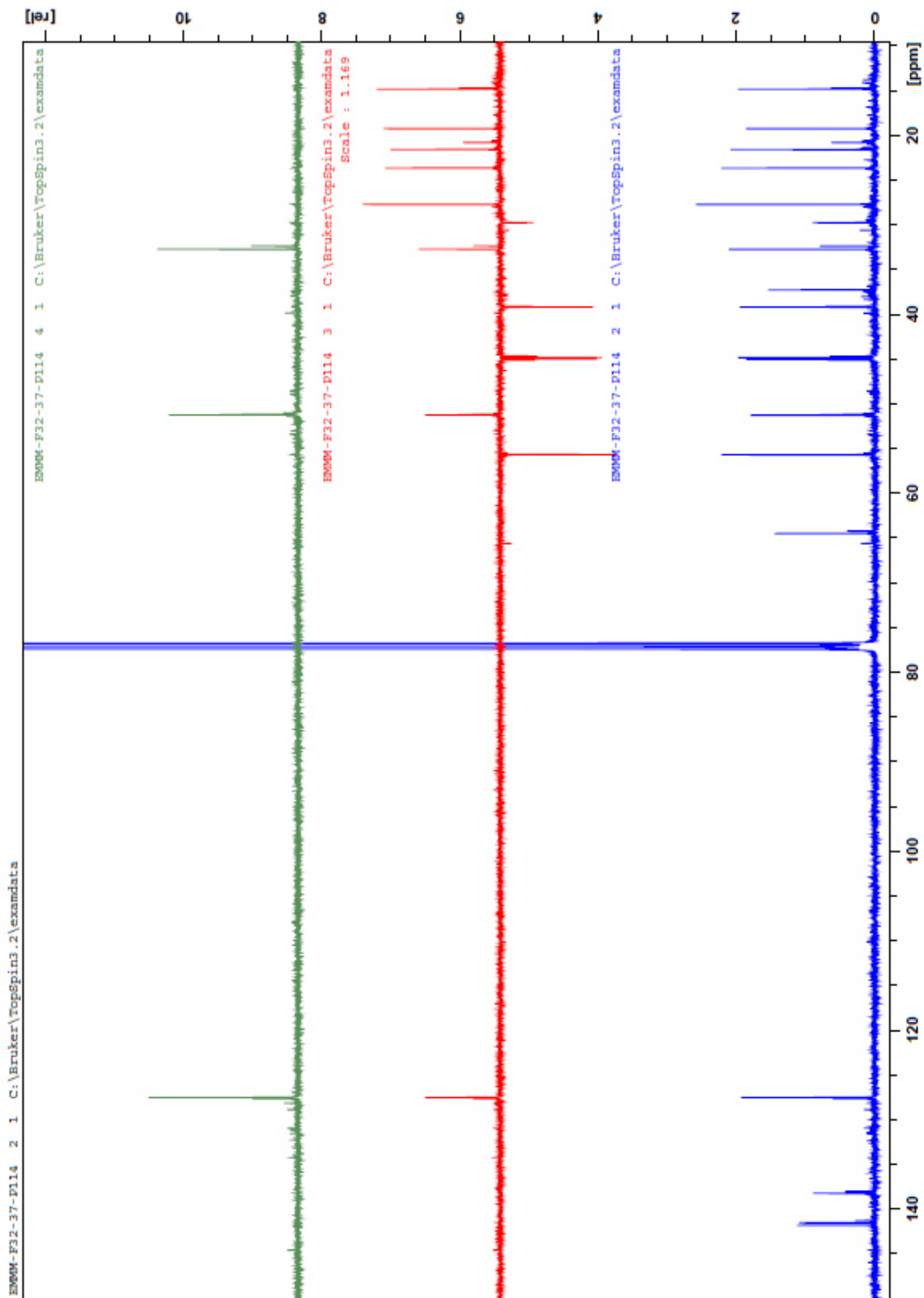


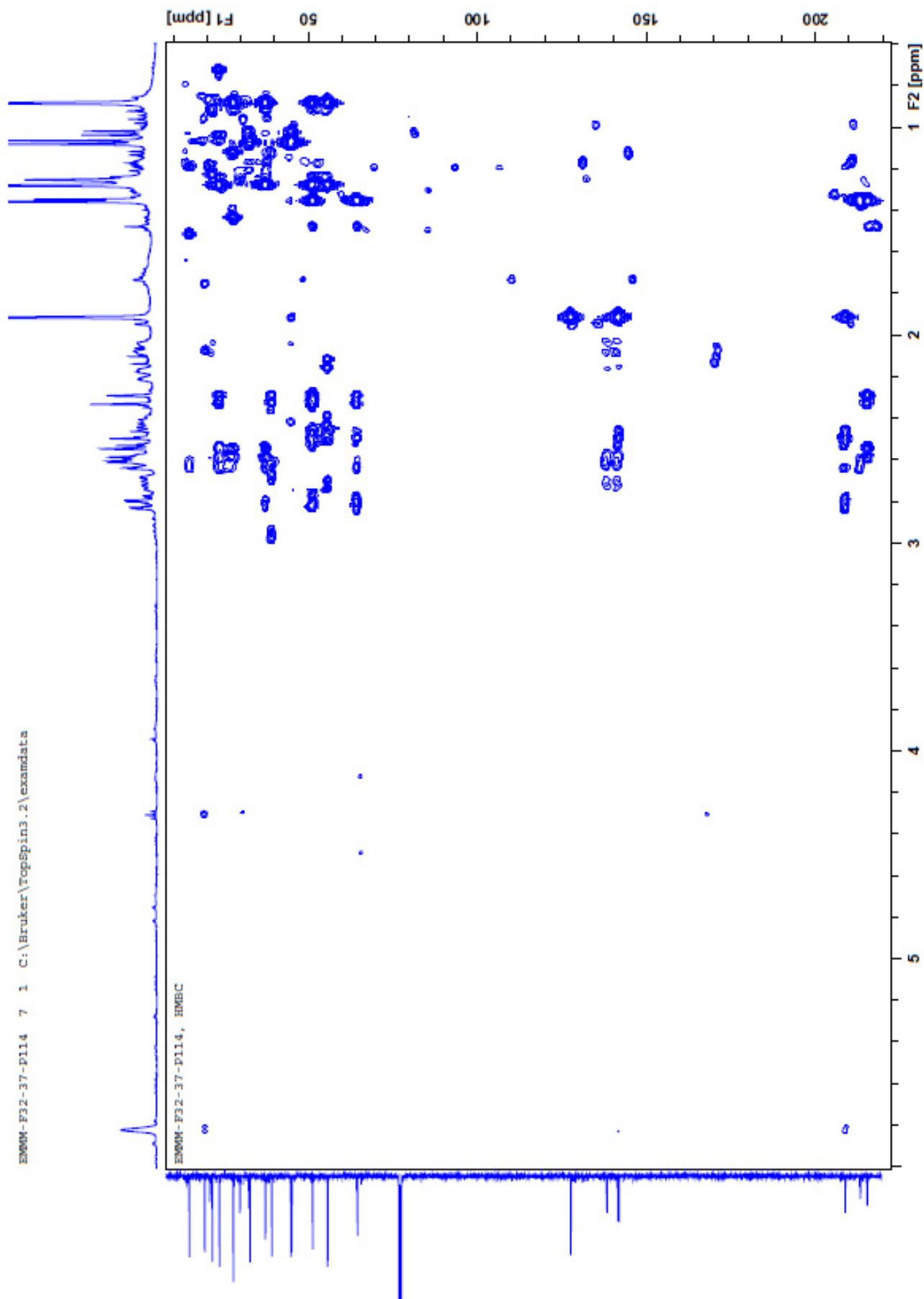
**8.5 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de la mezcla de C-2 epímeros de *iso-jatrofatriona* en  $\text{CDCl}_3$  400 MHz**

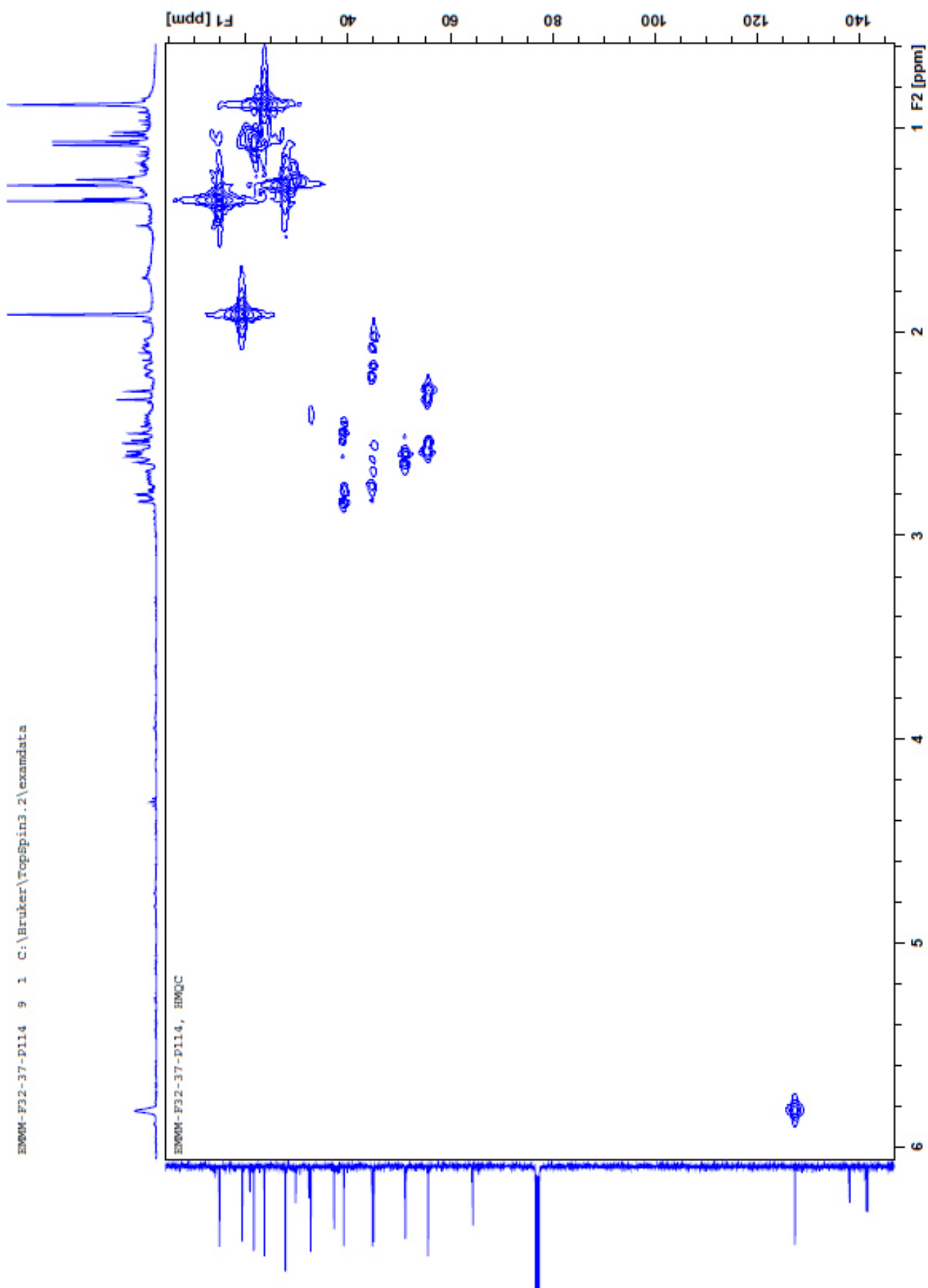




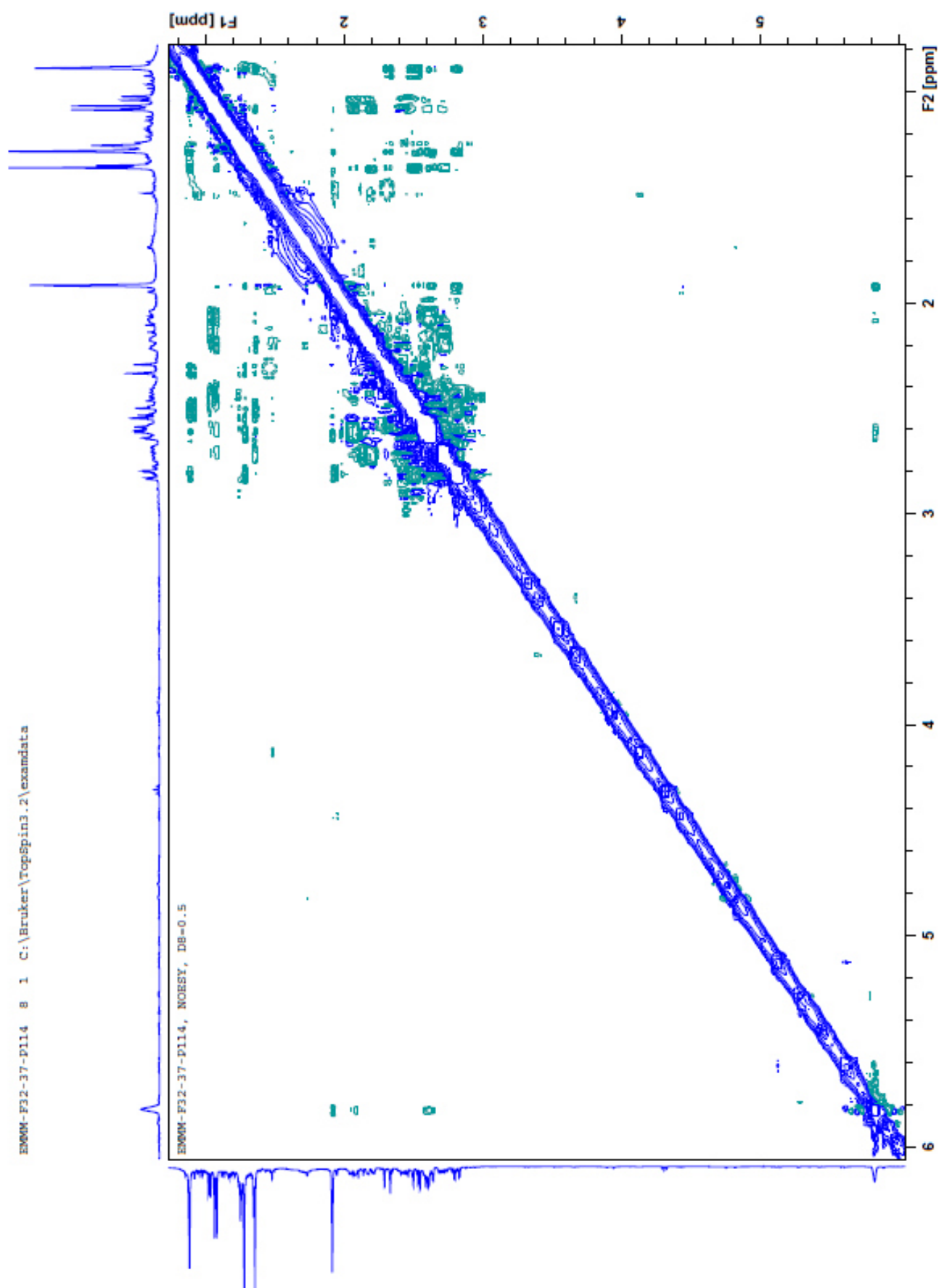












**8.6 Coordenadas XYZ de confórmers calculados con un nivel de teoría M062x/ 6-311+G(d,p)**

### 8.6.1 Confórmeros de 2*R* *iso*-jatrofatriona

Confórmero 1				Confórmero 2			
O	-0.02536900	-1.02992800	-2.07917400	O	-0.15275900	-1.05965300	-2.17669000
O	-1.64013900	-3.24434100	-0.20007200	O	-1.85165300	-3.13800600	-0.24065100
O	0.88546800	1.83747200	1.90509100	O	1.20335800	1.66566400	1.81225000
C	2.67396900	-1.57767000	0.00137400	C	2.61069200	-1.85274000	-0.37768900
C	4.02434800	-0.85974400	-0.22119400	C	3.87403200	-1.10212400	0.10518900
C	3.66313800	0.63821400	-0.19365700	C	3.77352900	0.28406700	-0.57092300
C	2.21094200	0.65480000	-0.61407300	C	2.28699600	0.44669400	-0.80457700
C	1.50373500	1.87831300	-1.03119100	C	1.66265100	1.73318800	-1.15569200
C	0.49348100	2.43091200	-0.35551600	C	0.74190300	2.34939300	-0.41081600
C	0.09708700	1.87793500	0.99175000	C	0.37455700	1.79485100	0.94391200
C	-1.33005900	1.37897900	1.14343800	C	-1.07888500	1.41006500	1.16098200
C	-1.66802200	0.33394200	0.07765800	C	-1.55614800	0.42322800	0.09273800
C	-3.16447600	-0.09506300	0.01075400	C	-3.08511200	0.12212100	0.09719500
C	-3.08217100	-1.38645500	-0.81720800	C	-3.15558300	-1.15226200	-0.75764300
C	-1.83434700	-2.06579100	-0.30146900	C	-1.94716600	-1.94567100	-0.31757000
C	-0.82803700	-0.98643700	0.16148700	C	-0.82798700	-0.96521400	0.10607300
C	0.26679700	-0.89557500	-0.91470700	C	0.20913400	-0.94654100	-1.02967200
C	1.67236400	-0.56499200	-0.51484100	C	1.65488000	-0.72593500	-0.70393000
C	-0.30153200	3.60833400	-0.85090500	C	0.01962900	3.59926200	-0.83539000
C	-4.00846100	0.97670700	-0.67620000	C	-3.87016700	1.27612800	-0.52294900
C	-3.75162500	-0.40790400	1.39151600	C	-3.62374800	-0.17383600	1.50139700
C	-0.27052900	-1.35602500	1.53725200	C	-0.22946700	-1.41051900	1.44205800
H	2.50878800	-1.76925500	1.06897000	H	2.22481300	-2.54059900	0.37963600
H	2.61349900	-2.53770500	-0.51704400	H	2.79554900	-2.44071800	-1.28377800
H	1.82693900	2.33878100	-1.96376600	H	1.96961800	2.18962400	-2.09591800
H	-2.00734600	2.23458800	1.03378300	H	-1.68817300	2.32025700	1.10537300
H	-1.43723200	0.99211800	2.15745800	H	-1.16560300	1.00785200	2.17078800
H	-1.45721600	0.77800500	-0.90250500	H	-1.35873400	0.87280600	-0.88776500
H	-3.95601000	-2.03511700	-0.74669600	H	-4.07739800	-1.72565000	-0.65390900
H	-2.89136500	-1.14976500	-1.87164000	H	-2.99765200	-0.90922300	-1.81605200
H	-0.32501700	4.40986300	-0.10744200	H	0.10075200	4.38017100	-0.07422200
H	-1.33836400	3.31938600	-1.05411400	H	-1.04661900	3.39993800	-0.98794600
H	0.12736100	4.00065400	-1.77312500	H	0.42960900	3.98051900	-1.77079800
H	-4.02982700	1.90106300	-0.09122200	H	-3.78187400	2.18560600	0.07880600
H	-3.61606300	1.20597900	-1.67055000	H	-3.51303500	1.49414300	-1.53300600
H	-5.04164000	0.63801700	-0.78934300	H	-4.93290400	1.02782900	-0.58541100
H	-4.78580100	-0.74527700	1.28455200	H	-4.68563000	-0.42641500	1.44320100
H	-3.75424300	0.47577300	2.03422700	H	-3.52299900	0.69265100	2.15941900
H	-3.20136100	-1.20202400	1.90280700	H	-3.11292400	-1.02015700	1.96816000
H	0.49572300	-0.65137200	1.86410700	H	0.64008400	-0.81042700	1.71450400
H	0.15839600	-2.35893000	1.49017000	H	0.06525500	-2.45879500	1.36853400
H	-1.05897700	-1.37150300	2.29097000	H	-0.96069500	-1.33202300	2.24778000
H	4.29953100	1.24305500	-0.84573000	H	4.30445300	0.31751300	-1.52990600
H	3.74153200	1.05670100	0.81845300	H	4.17702700	1.08143200	0.05932500
C	5.10953900	-1.26325100	0.76730600	C	3.86374100	-0.94699300	1.62618400
H	4.80155400	-1.02913100	1.79020300	H	2.99102100	-0.36721600	1.94300200
H	6.04271200	-0.73156400	0.56655600	H	4.75514200	-0.41638500	1.96861600
H	5.31504700	-2.33501400	0.71271700	H	3.83532000	-1.92024500	2.12199600
H	4.35284500	-1.09833100	-1.23799800	H	4.77915800	-1.62949900	-0.20296800

**Confórmero 3**

O	-0.14937400	-1.70121100	1.42215400
O	1.32057700	-2.95395400	-1.22185800
O	0.04591400	1.89829300	1.90330400
C	-2.79913900	-1.63005500	0.39152700
C	-4.10017200	-0.82178200	0.48549700
C	-3.79737600	0.42922300	-0.34800800
C	-2.28575700	0.58788400	-0.25012400
C	-1.77587400	1.91021500	-0.62949000
C	-0.69554600	2.59479500	-0.23853200
C	0.30673400	2.05440800	0.73712400
C	1.68331200	1.69210700	0.18393800
C	1.86873900	0.19198100	0.39266700
C	3.29634000	-0.38761300	0.19453100
C	2.99763300	-1.89491700	0.18155600
C	1.68817700	-2.01951700	-0.56783900
C	0.88992300	-0.69183500	-0.43681400
C	-0.33014900	-1.00988500	0.44338700
C	-1.73080600	-0.57966200	0.14018500
C	-0.37519500	3.97105200	-0.75617400
C	4.20478200	0.00486200	1.35920300
C	3.95583800	0.03110600	-1.12399700
C	0.53109100	-0.23745400	-1.85505400
H	-2.82589100	-2.32806900	-0.45665600
H	-2.58440100	-2.21454400	1.28661300
H	-2.43309400	2.42485300	-1.33080900
H	2.43370100	2.24522800	0.75728600
H	1.77274600	1.96650000	-0.86976300
H	1.63188400	-0.00327200	1.44349800
H	3.77407800	-2.51737700	-0.26534900
H	2.80079100	-2.24875800	1.20145800
H	0.60837700	3.99594000	-1.23485600
H	-0.35128400	4.69025100	0.06766400
H	-1.12069400	4.29746000	-1.48140300
H	3.75075700	-0.25882800	2.31749000
H	4.40652800	1.07971300	1.35999200
H	5.16644900	-0.50946600	1.28306800
H	4.97148400	-0.37081800	-1.17028000
H	4.02622900	1.11921700	-1.20488300
H	3.42088700	-0.34576900	-1.99784300
H	-0.04698200	-1.02758000	-2.33812600
H	1.42674500	-0.07194800	-2.45438300
H	-0.05515200	0.67722500	-1.86573000
H	-4.07312300	0.28071900	-1.40226600
H	-4.32989600	1.31659800	0.00381400
C	-5.34841100	-1.58026800	0.05693800
H	-5.25819100	-1.91095500	-0.98191600
H	-6.23988900	-0.95322200	0.13557100
H	-5.50383100	-2.46474700	0.67895100
H	-4.21003500	-0.50125900	1.52691900

**Confórmero 4**

O	0.07030200	-1.59826500	-1.64235300
O	-1.21600100	-3.01047000	1.00175800
O	-0.10760800	2.05733600	-1.84398000
C	2.77411400	-1.54401600	-0.98139700
C	4.09696400	-1.08010000	-0.35328900
C	3.86644900	0.42627200	-0.15668000
C	2.35966700	0.56469800	0.00172200
C	1.90547600	1.85643200	0.53002700
C	0.80712500	2.57764600	0.28051200
C	-0.27571900	2.12339400	-0.65243200
C	-1.61005200	1.73132300	-0.02236800
C	-1.83447300	0.25333900	-0.32851400
C	-3.25183900	-0.32462500	-0.06325500
C	-2.97783400	-1.83175400	-0.18537800
C	-1.61690700	-2.02607100	0.44841500
C	-0.80902400	-0.70126200	0.35334000
C	0.33171000	-0.96470900	-0.64165400
C	1.75207600	-0.55982200	-0.43464700
C	0.54701500	3.91059800	0.92846700
C	-4.24111900	0.16412000	-1.12065400
C	-3.80011600	0.00064500	1.33042100
C	-0.33186500	-0.35934500	1.76855200
H	2.78412700	-1.46964100	-2.07392400
H	2.51867100	-2.57771900	-0.73502300
H	2.62337800	2.30913000	1.21356000
H	-2.39420400	2.33389400	-0.49122800
H	-1.61333500	1.92432900	1.05291500
H	-1.68301800	0.13644000	-1.40650100
H	-3.72783600	-2.47753500	0.27343200
H	-2.86578600	-2.11015100	-1.24088700
H	-0.39342700	3.90319100	1.48756000
H	0.46380800	4.69191400	0.16746300
H	1.35361700	4.17510600	1.61227300
H	-3.86712100	-0.03153500	-2.12854400
H	-4.42463300	1.23807700	-1.02585600
H	-5.20236800	-0.34418700	-1.00774100
H	-4.81454300	-0.39518100	1.42752600
H	-3.84862300	1.08034600	1.49594300
H	-3.20344100	-0.44423000	2.12908700
H	-1.17462500	-0.22585000	2.44735600
H	0.26586000	-1.19199000	2.14457900
H	0.27250600	0.54295600	1.80091100
H	4.40718100	0.83227300	0.70466000
H	4.17944000	1.00396300	-1.03473300
C	4.34501300	-1.77721300	0.98391200
H	3.50656400	-1.60361600	1.66579000
H	4.44978500	-2.85589500	0.84870500
H	5.25460700	-1.40349800	1.46025800
H	4.93989500	-1.26669700	-1.02158800

**Confórmero 5**

O	0.16346200	-1.35319500	2.49898500
O	-2.72836000	-1.91232500	1.87749500
O	1.05231700	2.02040200	-1.89264000
C	2.00422700	-1.99401400	-0.00846100
C	3.13668300	-1.40697600	-0.87756700
C	3.46146000	-0.05065000	-0.21836100
C	2.16824400	0.30918000	0.48012200
C	1.87681200	1.65537700	1.01362200
C	1.02117000	2.49072200	0.42439400
C	0.39412600	2.07420600	-0.88167000
C	-1.06889700	1.67537900	-0.88906400
C	-1.20368900	0.16658900	-0.60639800
C	-2.45780700	-0.47847200	-1.27429400
C	-2.53883400	-1.82379700	-0.54051500
C	-2.23216600	-1.44893300	0.89274500
C	-1.22185100	-0.26836800	0.88634400
C	0.12055600	-0.83213000	1.41404700
C	1.37186700	-0.75678600	0.59053200
C	0.64231400	3.84484900	0.95274200
C	-2.25955900	-0.65588400	-2.77731800
C	-3.74106900	0.31746000	-1.00732400
C	-1.69354700	0.76585400	1.92258300
H	2.39189700	-2.63095000	0.79654300
H	1.30124300	-2.60076700	-0.58808600
H	2.38442300	1.96210500	1.92697400
H	-1.64853700	2.25873200	-0.17023600
H	-1.44090200	1.88814000	-1.89336400
H	-0.34602300	-0.32349000	-1.08368700
H	-3.49607400	-2.33908900	-0.62406200
H	-1.74302400	-2.49308100	-0.89364100
H	-0.43449000	3.90653800	1.14014700
H	0.89147100	4.62472100	0.22812100
H	1.16501000	4.05499900	1.88626900
H	-2.17014200	0.30678900	-3.28729000
H	-1.35541600	-1.23331200	-2.98752100
H	-3.11142000	-1.18335900	-3.21459600
H	-4.59204200	-0.18652300	-1.47269500
H	-3.68176600	1.32455300	-1.42674600
H	-3.95828400	0.40291600	0.06068700
H	-2.65423200	1.20024900	1.64112500
H	-1.80971700	0.25232500	2.87683300
H	-0.96219300	1.56822100	2.03902800
H	4.26995200	-0.14857200	0.51869800
H	3.76123600	0.71096100	-0.94188200
C	4.33620100	-2.32964600	-1.04418900
H	4.77930300	-2.56105600	-0.07145000
H	5.10635800	-1.86524100	-1.66448200
H	4.04781900	-3.27215800	-1.51582200
H	2.70875300	-1.18648100	-1.86141000

**Confórmero 6**

O	0.39445300	0.11829700	2.76454600
O	-1.57628200	-2.56397200	1.60956100
O	0.89144800	1.72185800	-2.05793300
C	1.52335200	-2.02425700	0.17360300
C	2.60814400	-1.79244700	-0.90322500
C	3.31760900	-0.48941700	-0.47418100
C	2.26641600	0.21238800	0.35643100
C	2.26932200	1.65508700	0.67151500
C	1.39444900	2.49694000	0.11807000
C	0.46794100	1.98771900	-0.95853600
C	-1.01021400	1.77601100	-0.65049900
C	-1.26965700	0.27337100	-0.41566900
C	-2.55762900	-0.31629300	-1.07440700
C	-2.74150100	-1.65212200	-0.31751000
C	-1.81133100	-1.63264300	0.89174600
C	-1.24047200	-0.21555700	1.05252300
C	0.17939700	-0.23146700	1.63110500
C	1.30196000	-0.63539200	0.72755200
C	1.28493000	3.95900000	0.44684400
C	-2.28996500	-0.55954900	-2.56348500
C	-3.79425800	0.58402000	-0.95640500
C	-2.17217500	0.49401100	2.04714000
H	1.87057900	-2.69326000	0.97074800
H	0.61657900	-2.47825600	-0.23860100
H	2.99243100	2.02807200	1.39370500
H	-1.34136800	2.37790900	0.19808500
H	-1.55252300	2.10571900	-1.53939900
H	-0.45304000	-0.26165800	-0.91614700
H	-3.76492400	-1.81225400	0.03426900
H	-2.47857000	-2.52091200	-0.92732000
H	0.28156500	4.20495100	0.80768800
H	1.47231900	4.56974900	-0.44054300
H	2.00220400	4.23432100	1.22012900
H	-2.02426600	0.37252700	-3.07033700
H	-1.46250400	-1.26021100	-2.70353700
H	-3.17615700	-0.97138400	-3.05373300
H	-4.66246200	0.06387300	-1.36988200
H	-3.66545500	1.50397100	-1.53142000
H	-4.03023700	0.86311800	0.06959500
H	-3.22247000	0.34106900	1.80326900
H	-1.98850100	0.08716300	3.04071600
H	-1.96802100	1.56520900	2.08623300
H	4.20301900	-0.69905800	0.14086200
H	3.64000500	0.11288100	-1.32634200
C	3.54090000	-2.97731200	-1.11124700
H	4.07294400	-3.21211000	-0.18491600
H	4.28421900	-2.76291100	-1.88272700
H	2.98670100	-3.86834000	-1.41602200
H	2.08766500	-1.57219700	-1.84195000

**Confórmero 7**

O	0.50984000	-1.64524800	2.13509300
O	-2.40108200	-2.36291900	1.67038800
O	0.75959500	2.37100000	-1.69301900
C	1.85716700	-1.85023600	-0.83711300
C	3.29121300	-1.39172700	-1.20716700
C	3.30653300	0.12115800	-0.88926200
C	2.19757000	0.28007400	0.12664200
C	1.99546100	1.49871900	0.93867000
C	1.05991300	2.40460600	0.65131400
C	0.24963800	2.22589900	-0.60768600
C	-1.20287400	1.80588800	-0.48993100
C	-1.29628300	0.26768100	-0.49534200
C	-2.61796100	-0.27889600	-1.11804800
C	-2.58094900	-1.74615800	-0.67067600
C	-2.07843200	-1.66447200	0.75457900
C	-1.11893400	-0.44677800	0.87180200
C	0.29549400	-1.01635800	1.13115400
C	1.41115800	-0.79674100	0.15130800
C	0.76654200	3.62642900	1.47466100
C	-2.61287800	-0.14304600	-2.63857600
C	-3.86814500	0.39426000	-0.53929200
C	-1.50274400	0.34222000	2.13510000
H	1.84222500	-2.85471000	-0.40391700
H	1.19160700	-1.85839000	-1.71001900
H	2.63508700	1.64351800	1.80781500
H	-1.67418700	2.22336300	0.40233100
H	-1.71060700	2.20169300	-1.37188300
H	-0.50434800	-0.09373200	-1.16218400
H	-3.53436200	-2.27209300	-0.72920400
H	-1.83521100	-2.29963100	-1.25720200
H	-0.27150800	3.62623600	1.82208000
H	0.91150100	4.53431300	0.88296600
H	1.41944700	3.66939700	2.34678300
H	-2.61088000	0.90522700	-2.94818500
H	-1.73158700	-0.62343700	-3.07191000
H	-3.50288900	-0.61202300	-3.06636500
H	-4.76284200	-0.02513600	-1.00664400
H	-3.86744400	1.47024000	-0.72975300
H	-3.96055800	0.23642900	0.53824500
H	-2.49714700	0.78169200	2.04508900
H	-1.49855000	-0.35003200	2.97646100
H	-0.78061400	1.13769700	2.33125700
H	4.27517200	0.45289400	-0.50226900
H	3.07348000	0.74431800	-1.76033300
C	4.31877100	-2.13365700	-0.35385800
H	4.11122400	-1.97296100	0.70876400
H	5.33083500	-1.77926100	-0.56228900
H	4.28778300	-3.20869700	-0.54491100
H	3.49600000	-1.57277300	-2.26409600

**Confórmero 8**

O	0.68563900	-0.25785000	2.54761800
O	-1.20778800	-2.96339900	0.93316000
O	0.43813200	2.14798800	-1.84971900
C	1.48906700	-1.92033200	-0.54309800
C	2.88452300	-1.72850100	-1.18834000
C	3.12225000	-0.20238600	-1.13864500
C	2.24053700	0.25490700	-0.00045100
C	2.27074900	1.62081700	0.56119900
C	1.31493500	2.51768000	0.31471200
C	0.21837900	2.17524300	-0.66239300
C	-1.17319300	1.82471400	-0.14404800
C	-1.37474500	0.29946300	-0.26385100
C	-2.71686100	-0.19903700	-0.88288800
C	-2.73065900	-1.69373500	-0.47662400
C	-1.61905100	-1.90369900	0.54991500
C	-1.13324100	-0.52871800	1.02203600
C	0.34664400	-0.50267000	1.41589300
C	1.35958400	-0.69426400	0.33478600
C	1.25615800	3.89502300	0.91177700
C	-2.65334600	-0.04297800	-2.40575900
C	-3.95653000	0.55165000	-0.38045100
C	-1.99160200	-0.18197000	2.24819800
H	1.40816400	-2.85324200	0.02022800
H	0.69168000	-1.93668100	-1.29888300
H	3.10096400	1.88703200	1.21192400
H	-1.32174700	2.17181100	0.88055900
H	-1.88257100	2.34557200	-0.79148100
H	-0.61963800	-0.05208800	-0.97639800
H	-3.67851100	-2.00853300	-0.02987300
H	-2.54182700	-2.36220200	-1.32065300
H	0.32232700	4.04121400	1.46332300
H	1.29701700	4.65711400	0.12879800
H	2.08703900	4.05249800	1.59954200
H	-2.49152500	1.00244600	-2.68356400
H	-1.83066900	-0.62719100	-2.82629700
H	-3.58570100	-0.37775200	-2.86832100
H	-4.85695200	0.07530800	-0.77758300
H	-3.95583000	1.58489200	-0.73578800
H	-4.03906100	0.57339900	0.70532200
H	-3.03467500	-0.46275400	2.10596700
H	-1.60489700	-0.72974500	3.10670600
H	-1.94142400	0.88208900	2.48447600
H	4.17474700	0.05389400	-0.98077500
H	2.79845500	0.30683400	-2.05427400
C	3.95087800	-2.47051500	-0.38334600
H	3.95459400	-2.11981900	0.65323400
H	4.94542900	-2.30347500	-0.80342500
H	3.76029800	-3.54593000	-0.37551200
H	2.88959800	-2.09275600	-2.21745100

**Confórmero 9**

O	0.32548900	-1.72062900	-2.02453400
O	-1.88541500	-3.43524500	-0.50620200
O	-1.11583800	3.30403600	1.22231900
C	2.84377100	-1.53712200	0.06731900
C	4.05550000	-0.58578500	0.00494800
C	3.43152700	0.81539400	0.12089700
C	2.01133000	0.63062400	-0.39510300
C	1.32913900	1.83321300	-0.91968800
C	0.30624100	2.59781600	-0.50466300
C	-0.54723900	2.36341600	0.71596800
C	-0.72192800	0.95917600	1.24742200
C	-1.31063300	0.03137200	0.17444500
C	-2.85809300	-0.13158400	0.12935800
C	-2.99467000	-1.29820500	-0.86664400
C	-1.87465100	-2.23756100	-0.46678400
C	-0.71646200	-1.40507200	0.11826600
C	0.42782100	-1.32216600	-0.89192300
C	1.69495200	-0.67024800	-0.41505100
C	-0.04056800	3.87199600	-1.22990200
C	-3.51891400	1.15465900	-0.36232200
C	-3.47727600	-0.54475900	1.46941200
C	-0.24888700	-2.01084100	1.44415700
H	2.66834100	-1.88527300	1.09313900
H	2.96914700	-2.42574200	-0.55651500
H	1.87381700	2.23018800	-1.77863800
H	-1.34335600	1.01830800	2.14120400
H	0.26571800	0.60152100	1.54820400
H	-1.07547100	0.47957300	-0.79865000
H	-3.96255600	-1.80034900	-0.85727100
H	-2.78254700	-0.95435700	-1.88723400
H	0.08346100	4.72829300	-0.56468200
H	-1.09026600	3.86504200	-1.53475800
H	0.58484400	4.00392400	-2.11215300
H	-3.37509500	1.96613400	0.35697500
H	-3.09851000	1.46932500	-1.32229400
H	-4.59430300	1.00959200	-0.49465000
H	-4.55684100	-0.66396100	1.34550400
H	-3.31886800	0.21088500	2.24134800
H	-3.08834700	-1.49946900	1.83129800
H	0.60910000	-1.47496100	1.85076500
H	0.03121600	-3.05429200	1.28542500
H	-1.04262700	-1.98413900	2.19115500
H	3.98171300	1.57449600	-0.44198500
H	3.39600700	1.15765900	1.16416000
C	5.13535900	-0.88289900	1.03613100
H	4.73097600	-0.80329200	2.04939100
H	5.96762000	-0.18054800	0.94950000
H	5.53338900	-1.89246900	0.91046800
H	4.48163400	-0.66992800	-0.99983700

**Confórmero 10**

O	0.13809200	-1.76301100	-2.13954700
O	-2.16140000	-3.25589700	-0.51979900
O	-0.63572800	3.34464300	1.24560100
C	2.77143400	-1.83251400	-0.26994500
C	3.86502100	-0.95036000	0.36554500
C	3.59827900	0.44475900	-0.23197300
C	2.11497800	0.41808600	-0.57855300
C	1.52910700	1.68840400	-1.05426200
C	0.60986400	2.54007100	-0.57185600
C	-0.19247600	2.36371700	0.69230300
C	-0.47661800	0.97263100	1.21268900
C	-1.20595700	0.12598200	0.15903200
C	-2.76225300	0.11601900	0.19357600
C	-3.06425000	-1.01361300	-0.80859200
C	-2.02690600	-2.06603400	-0.47341200
C	-0.76182100	-1.36115300	0.05577900
C	0.32892400	-1.37532400	-1.01461500
C	1.66992100	-0.84378700	-0.59762100
C	0.34942600	3.85595200	-1.25762800
C	-3.31802300	1.46939300	-0.24433400
C	-3.34801600	-0.26150000	1.55905800
C	-0.28271500	-2.02856700	1.34853000
H	2.44182600	-2.63818700	0.39312300
H	3.10413300	-2.30171500	-1.20269800
H	2.06380900	2.04629300	-1.93663700
H	-1.04531900	1.07679900	2.13689300
H	0.48401600	0.51353500	1.45914200
H	-0.97710700	0.56649700	-0.81909100
H	-4.07627900	-1.41626200	-0.75702700
H	-2.86760500	-0.67551800	-1.83418800
H	0.58942100	4.68283600	-0.58696300
H	-0.71045500	3.95510900	-1.50611900
H	0.93787000	3.94579900	-2.17012500
H	-3.05648000	2.24953800	0.47649200
H	-2.92032800	1.75883200	-1.22176000
H	-4.40800200	1.43300100	-0.31923400
H	-4.43893900	-0.27730900	1.49089900
H	-3.07974300	0.46190100	2.33152600
H	-3.03218800	-1.25484600	1.88698400
H	0.68617000	-1.64127100	1.66706800
H	-0.19341600	-3.10446000	1.18471300
H	-0.99103100	-1.86587800	2.16171900
H	4.17776300	0.61990500	-1.14655600
H	3.84171600	1.25302800	0.46412400
C	3.73395500	-0.92122000	1.88808900
H	2.75530100	-0.52735300	2.18168100
H	4.49700400	-0.27977600	2.33438100
H	3.83873300	-1.92183700	2.31340800
H	4.86018800	-1.31020600	0.09734100



## 8.6.2 Confórmeros de riolozatriona

Confórmero 1				Confórmero 2			
C	2.24841000	0.62758200	-0.53925500	C	2.42991300	0.86699600	-0.22782700
C	1.43482600	0.38287200	0.49325200	C	1.44133000	0.48216500	0.58557500
C	1.07260600	1.63901600	1.23248100	C	0.94970800	1.61485100	1.43998400
C	2.06260400	2.68342800	0.63980400	C	1.61763600	2.86172600	0.78484300
C	2.55877500	2.08423500	-0.70868200	C	2.80472700	2.30862700	-0.06196500
C	2.64029700	-0.63336900	-1.19001300	C	2.96421200	-0.29040500	-0.96347300
C	1.91886900	-1.76839600	-0.44114700	C	2.09354200	-1.50281000	-0.58710600
C	1.09437000	-1.07342200	0.67280600	C	1.16797600	-1.00031700	0.54955100
C	-0.43510300	-1.36564400	0.64079100	C	-0.33310400	-1.38357400	0.43501900
C	-1.10475200	-0.66031800	1.83306800	C	-1.05299500	-0.95297100	1.72532300
C	-2.49731800	-0.11365100	1.58834200	C	-2.50195900	-0.53532100	1.57534700
C	-2.44880300	0.88668500	0.44147400	C	-2.59076600	0.63209900	0.60204500
C	-1.60889500	0.48824200	-0.74905700	C	-1.72025600	0.54422500	-0.62849400
C	-1.00505700	-0.88835200	-0.70515900	C	-0.93069600	-0.71953000	-0.81684200
H	1.42373300	-1.40219200	1.66483800	H	1.49049200	-1.42705200	1.50687500
C	2.93064300	-2.78564300	0.08369600	C	2.96772300	-2.70009000	-0.22332500
C	1.46860300	4.07956500	0.50945700	C	0.63179400	3.60276000	-0.11819000
C	-0.68687000	-2.87180800	0.81459900	C	-0.48461800	-2.91065500	0.32959700
O	-0.94393200	-1.58470800	-1.68748200	O	-0.74301400	-1.18733500	-1.91251100
O	-0.54913500	-0.57611300	2.89880600	O	-0.49071600	-0.97164600	2.79092900
O	3.41238600	-0.79071700	-2.10369400	O	3.91977900	-0.32638600	-1.69944500
H	0.03049100	1.91865800	1.02983200	H	-0.14111700	1.70179800	1.46598400
H	1.15935500	1.53000300	2.31619600	H	1.27166300	1.45655600	2.47533700
H	2.92547000	2.72543800	1.31151600	H	1.97623600	3.54754500	1.55457600
H	2.00225300	2.49812800	-1.55819500	H	2.91371000	2.83798300	-1.01182800
H	3.61629900	2.28213600	-0.89312900	H	3.76151700	2.39032300	0.46261300
H	1.26501700	-2.25196100	-1.17166700	H	1.50087600	-1.73733600	-1.47722300
H	-2.86105100	0.34310800	2.50736500	H	-2.89027200	-0.26971400	2.55727300
H	-3.15469200	-0.95563200	1.34775200	H	-3.07187900	-1.39579700	1.21072200
H	2.42485700	-3.62920900	0.55882000	H	2.36448000	-3.58864100	-0.02785900
H	3.54277800	-3.15876600	-0.73862900	H	3.65629300	-2.91510800	-1.04166800
H	3.59276400	-2.32382600	0.82151200	H	3.56038800	-2.48548300	0.67015400
H	2.19519400	4.78143300	0.09346400	H	1.08352200	4.50832800	-0.52916200
H	0.59957000	4.06274400	-0.15608100	H	0.34390800	2.96836200	-0.96214600
H	1.14366300	4.46512600	1.47889900	H	-0.27281100	3.88931600	0.42504300
H	-1.75745100	-3.09113200	0.85610900	H	-1.53772400	-3.20549600	0.33553900
H	-0.22403300	-3.21759300	1.74070200	H	0.01572000	-3.39155500	1.17228800
H	-0.27010400	-3.41867000	-0.03118200	H	-0.04655800	-3.25901400	-0.60592100
H	-0.97760700	1.22521600	-1.23792500	H	-1.21243700	1.43080900	-0.99223100
C	-3.10263400	0.62910100	-0.89753300	C	-3.22216100	0.50236500	-0.76497200
H	-2.39457100	1.92493700	0.74997800	H	-2.66893900	1.60734900	1.07011400
C	-3.58408000	1.85186100	-1.64938500	C	-3.87407600	1.74981400	-1.32224000
H	-3.57383800	1.66722500	-2.72650900	H	-3.85259300	1.73766200	-2.41485300
H	-2.94891600	2.71716800	-1.44685000	H	-3.35865600	2.65101800	-0.98230200
H	-4.60696700	2.10313200	-1.35578000	H	-4.91779000	1.81153100	-1.00189800
C	-3.95286200	-0.59932800	-1.13427200	C	-3.89659700	-0.78016600	-1.19849700
H	-3.97835200	-0.82487800	-2.20298500	H	-3.91393900	-0.83175700	-2.28973300
H	-4.97713600	-0.42221200	-0.79456300	H	-4.92790300	-0.80967500	-0.83576100
H	-3.57304900	-1.49201600	-0.63611900	H	-3.38259800	-1.67775500	-0.85183900

**Confórmero 3**

C	-2.83769700	-0.27123900	-0.08984000
C	-1.66623500	0.34395700	-0.28488000
C	-1.83127700	1.83701900	-0.33402100
C	-3.36217800	1.99328100	-0.54456300
C	-3.98563500	0.68669400	0.02154600
C	-2.65203500	-1.72674700	-0.03710900
C	-1.15940900	-1.99724100	-0.30508300
C	-0.49069200	-0.59548200	-0.37743700
C	0.57278800	-0.34648000	0.75682100
C	1.61415400	-1.46222500	0.61743900
C	2.46870100	-1.48771900	-0.63945400
C	2.84313400	-0.13584400	-1.21470200
C	2.16992700	1.10864200	-0.68924600
C	1.21335900	1.01902600	0.45707700
H	0.01317300	-0.46309000	-1.34335500
C	-1.03164100	-2.81732600	-1.59042800
C	-3.93875700	3.26796800	0.05485600
C	-0.05606400	-0.35582400	2.14285600
O	0.92434900	1.99927800	1.09671400
O	1.71436400	-2.32712400	1.45025900
O	-3.48391800	-2.58426800	0.13032500
H	-1.51188700	2.27746900	0.61846700
H	-1.23810900	2.32198100	-1.11471100
H	-3.54168200	1.99154900	-1.62499400
H	-4.27730000	0.81066600	1.07128900
H	-4.87425100	0.36851400	-0.52642600
H	-0.77063300	-2.58509000	0.53093500
H	3.34820200	-2.09623500	-0.41904700
H	1.88218500	-2.03716900	-1.38389400
H	-0.00212100	-3.13566900	-1.76435200
H	-1.65657000	-3.70875300	-1.51732700
H	-1.36627300	-2.23371600	-2.45296800
H	-5.01525300	3.33298900	-0.12014300
H	-3.77009500	3.29271500	1.13513100
H	-3.47239400	4.15581800	-0.37877800
H	-0.57276000	-1.29724900	2.32934300
H	0.71639800	-0.24389400	2.90509700
H	-0.75838000	0.47071100	2.24389200
H	1.94821200	1.92427300	-1.36867000
C	3.64225500	0.85561100	-0.41574100
H	3.04953400	-0.14493100	-2.27942700
C	4.61500200	1.73108400	-1.17551700
H	4.75424200	2.68576300	-0.66177700
H	4.25753800	1.93708600	-2.18670500
H	5.58926200	1.24007500	-1.25135900
C	4.09683700	0.53043400	0.99192100
H	4.22785100	1.45472200	1.56036100
H	5.05722000	0.00860700	0.96451000
H	3.39830300	-0.09576000	1.54955500

**Confórmero 4**

C	-2.66880800	0.86827700	-0.24938500
C	-2.02511100	-0.08813700	0.43058000
C	-2.89406100	-1.29767800	0.62388700
C	-4.30911700	-0.75709200	0.27980800
C	-4.06269000	0.47480300	-0.63378800
C	-1.80371800	2.03250700	-0.45109400
C	-0.44306800	1.69069100	0.18349400
C	-0.63178400	0.30032700	0.85144600
C	0.50900500	-0.71358100	0.54161400
C	0.53523000	-1.08432200	-0.94684400
C	1.88833600	-1.21868000	-1.61750400
C	2.79598500	-0.03116200	-1.34293800
C	2.70827900	0.60508600	0.02289600
C	1.79442900	-0.01955200	1.03393200
H	-0.61341900	0.41542200	1.94309900
C	0.00829300	2.80433700	1.12526600
C	-5.23583700	-1.80317200	-0.32367100
C	0.31686200	-2.02006800	1.33115200
O	2.00837900	0.07585200	2.21714200
O	-0.48884700	-1.33307700	-1.53270800
O	-2.06310900	3.08399900	-0.98569200
H	-2.58580500	-2.07045600	-0.09190200
H	-2.83930900	-1.72999400	1.62680600
H	-4.74753200	-0.38441000	1.21157500
H	-4.09575700	0.19286900	-1.69286000
H	-4.79882300	1.26658600	-0.48322100
H	0.26221000	1.61049200	-0.65400200
H	1.71617300	-1.34991300	-2.68496500
H	2.33383400	-2.14962200	-1.24777000
H	0.98807500	2.59711200	1.56100600
H	0.04755600	3.75171500	0.58565600
H	-0.70580800	2.91248800	1.94614600
H	-6.21721500	-1.37763700	-0.54654100
H	-4.81625700	-2.19124900	-1.25611100
H	-5.38127800	-2.64504100	0.35787400
H	1.15077500	-2.70727100	1.16148200
H	-0.60250400	-2.51760400	1.02519400
H	0.27930500	-1.79485400	2.39749600
H	2.77608900	1.68432100	0.11853200
C	3.96537700	-0.12198300	-0.39226100
H	2.91851900	0.64884000	-2.17792200
C	5.16615500	0.74387400	-0.70651600
H	5.70227600	1.00458200	0.20953500
H	4.86737000	1.67027200	-1.20153600
H	5.85692700	0.21219300	-1.36680900
C	4.31794600	-1.42802100	0.28439200
H	4.87668200	-1.22582100	1.20134900
H	4.94312700	-2.04188500	-0.37032200
H	3.44321000	-2.01405600	0.57148100

**Confórmero 5**

C	2.90203300	0.16378000	-0.42673100
C	1.70042000	-0.42249100	-0.44063800
C	1.81137700	-1.90112700	-0.69317900
C	3.33164400	-2.16875700	-0.48555100
C	4.02942000	-0.79022100	-0.67723000
C	2.76521200	1.61557900	-0.26779800
C	1.27257800	1.89892500	-0.01501100
C	0.55133700	0.55108500	-0.31071700
C	-0.51843000	0.14238400	0.76545600
C	-1.48201400	1.33251900	0.85470000
C	-2.37803100	1.62629900	-0.33933700
C	-2.84898500	0.42955200	-1.14009500
C	-2.23121400	-0.92176300	-0.88341700
C	-1.25347400	-1.09969000	0.23308900
H	0.03897700	0.61996600	-1.28014200
C	0.80708900	3.12832000	-0.78979500
C	3.58150100	-2.69812800	0.92634600
C	0.11192000	-0.16225700	2.11798900
O	-1.03557700	-2.19603300	0.68597700
O	-1.47910700	2.05987900	1.81545400
O	3.62488600	2.45970000	-0.33211100
H	1.19527100	-2.50579400	-0.02523500
H	1.48535300	-2.12431000	-1.71689300
H	3.69829800	-2.89648700	-1.21189000
H	4.86745900	-0.65315600	0.01034200
H	4.41886000	-0.65773100	-1.69145800
H	1.19483600	2.11889400	1.05509800
H	-3.21200000	2.22910300	0.02685600
H	-1.78666900	2.27203500	-0.99696000
H	-0.12800700	3.52755900	-0.39443400
H	1.56744100	3.90634200	-0.70083600
H	0.67964900	2.90148300	-1.85228000
H	4.64627600	-2.87048400	1.09832600
H	3.23324200	-1.97260400	1.66883200
H	3.05021500	-3.63720200	1.09610000
H	-0.66265500	-0.42295900	2.84106400
H	0.65054900	0.70079300	2.50568100
H	0.79147100	-1.01012300	2.03130400
H	-2.07105100	-1.60593000	-1.70930500
C	-3.67964100	-0.65396600	-0.51190200
H	-3.08425800	0.65052300	-2.17553400
C	-4.72099600	-1.32176300	-1.38306500
H	-4.89950300	-2.34745700	-1.05012200
H	-4.40403400	-1.35295900	-2.42770800
H	-5.66780700	-0.77698300	-1.32980900
C	-4.07226000	-0.57815600	0.94879400
H	-4.22065200	-1.58586300	1.34528600
H	-5.01054500	-0.02742800	1.05667900
H	-3.32925200	-0.08832600	1.58102400

**Confórmero 6**

C	-2.77162000	0.81903800	-0.15536000
C	-2.07067600	-0.04185400	0.59223200
C	-2.91762500	-1.20326900	1.02843700
C	-4.18526700	-1.06658400	0.13185300
C	-4.20002500	0.41405500	-0.34938000
C	-1.94749500	1.96488500	-0.54197600
C	-0.53756600	1.70717800	0.01872500
C	-0.67326900	0.43704500	0.90634700
C	0.48980900	-0.58639000	0.74626400
C	0.44498700	-1.27669600	-0.62250800
C	1.76301500	-1.52744000	-1.32841600
C	2.63049000	-0.28121400	-1.39225900
C	2.59833900	0.64145100	-0.19826800
C	1.77772400	0.22733900	0.98640600
H	-0.63683800	0.73722000	1.96201800
C	-0.01165400	2.95355900	0.72666900
C	-4.08067300	-2.01263700	-1.06420900
C	0.40843500	-1.68855000	1.81759700
O	2.06856000	0.57448900	2.10414700
O	-0.60089100	-1.66926100	-1.07688000
O	-2.26742600	2.94913000	-1.16474800
H	-2.43038100	-2.16662300	0.86481300
H	-3.14727000	-1.12242700	2.09772400
H	-5.08726000	-1.29957400	0.70133600
H	-4.53019800	0.50395000	-1.38720000
H	-4.86136000	1.04194200	0.25573000
H	0.09166700	1.48172800	-0.85268200
H	2.26878500	-2.33252700	-0.78281700
H	1.53834400	-1.90825900	-2.32378100
H	1.00456000	2.81977000	1.10141100
H	-0.03367100	3.80080800	0.03969000
H	-0.65156200	3.19635300	1.57932500
H	-4.93932900	-1.89773000	-1.72977700
H	-3.16859300	-1.80056500	-1.62930100
H	-4.03888900	-3.05486400	-0.73823300
H	-0.52351200	-2.24350700	1.72923300
H	1.23809000	-2.39461800	1.71843900
H	0.47291000	-1.23145800	2.80533200
H	2.62029700	1.71648600	-0.34814700
C	3.85992400	-0.11898400	-0.53075400
H	2.66781400	0.19667200	-2.36424700
C	4.99598900	0.69282300	-1.11460000
H	5.57561100	1.16933700	-0.31994700
H	4.62319200	1.47467400	-1.77963700
H	5.66842800	0.04924100	-1.68859500
C	4.31656300	-1.22836500	0.39058900
H	4.92808700	-0.80865200	1.19292800
H	4.92155900	-1.95649400	-0.15725100
H	3.49115700	-1.75807700	0.86914900

**Confórmero 7**

C	-2.39619200	0.77342700	-0.47348600
C	-1.89635200	0.00484000	0.50291900
C	-2.78598800	-1.17230500	0.78505400
C	-4.10674300	-0.77591600	0.06827100
C	-3.69069300	0.25189500	-1.02137000
C	-1.50987300	1.91506000	-0.73485800
C	-0.37850900	1.84306100	0.30351700
C	-0.57512700	0.48968700	1.04203800
C	0.58904000	-0.55984300	0.88949300
C	0.53238100	-1.14174700	-0.52562100
C	1.17701300	-0.37770000	-1.66326100
C	2.48186800	0.31366200	-1.32809400
C	2.80720800	0.62757300	0.11920700
C	1.87159700	0.23388700	1.20567700
H	-0.63716100	0.66453000	2.12191900
C	-0.46201300	3.04412200	1.24818100
C	-4.89309700	-1.96333300	-0.46903800
C	0.40867500	-1.67065200	1.92833200
O	2.05860600	0.60656400	2.34016500
O	-0.06744800	-2.16796800	-0.73775100
O	-1.62179700	2.77897400	-1.57171500
H	-2.34731500	-2.07380300	0.33909400
H	-2.92473400	-1.36774400	1.85194400
H	-4.72164400	-0.23867200	0.79788900
H	-3.52350000	-0.24126300	-1.98612100
H	-4.44151900	1.02827600	-1.17891900
H	0.56994900	1.89590500	-0.23626800
H	1.29213200	-1.07468100	-2.49577300
H	0.44043300	0.37353400	-1.97794500
H	0.36018800	3.02048600	1.96647800
H	-0.41559500	3.97332900	0.67841000
H	-1.40501700	3.02615100	1.80198400
H	-5.81114200	-1.63641000	-0.96314200
H	-4.29511200	-2.51790300	-1.19763500
H	-5.16953600	-2.65114600	0.33375100
H	1.19313200	-2.42454600	1.83166900
H	-0.54839800	-2.17101300	1.79380400
H	0.46569400	-1.23864100	2.92692700
H	3.33001500	1.54832400	0.35128600
C	3.61582200	-0.40277800	-0.66444300
H	2.76875500	1.08166000	-2.03842700
C	5.01442400	0.04521200	-1.03623100
H	5.70493300	-0.12132900	-0.20547400
H	5.03827700	1.10613100	-1.29275300
H	5.37536400	-0.52277000	-1.89824300
C	3.54648700	-1.87625100	-0.32054100
H	4.22297100	-2.09205500	0.51055600
H	3.86858900	-2.47137300	-1.17941700
H	2.55578200	-2.22692900	-0.03566300

**Confórmero 8**

C	-2.55201300	0.68444700	-0.39733200
C	-1.94147000	0.04448400	0.60778600
C	-2.76835400	-1.10678600	1.10950400
C	-3.83322400	-1.27691600	-0.01490900
C	-3.88228800	0.09379100	-0.75206000
C	-1.76322800	1.84500900	-0.82932700
C	-0.50513000	1.88423000	0.05272500
C	-0.63341400	0.67397800	1.02173300
C	0.57686600	-0.33507700	1.06847100
C	0.46885000	-1.26687100	-0.13949100
C	0.94264200	-0.76630800	-1.48687000
C	2.21765700	0.05107800	-1.45960100
C	2.64044700	0.72562800	-0.17000200
C	1.83701400	0.55321000	1.07059300
H	-0.70613700	1.04969300	2.04910900
C	-0.39819200	3.22993700	0.77026700
C	-3.40502000	-2.38388100	-0.97785100
C	0.51667000	-1.13767400	2.37031900
O	2.11099500	1.17610500	2.06901700
O	-0.03879000	-2.35702800	-0.02898800
O	-2.02309100	2.64865700	-1.69241600
H	-2.19119100	-2.02221400	1.25341400
H	-3.21820600	-0.84070600	2.07374300
H	-4.80751600	-1.52519900	0.41033900
H	-4.02470800	-0.02223200	-1.82920000
H	-4.69072100	0.73457600	-0.38641800
H	0.35172600	1.78088200	-0.61842200
H	0.12402500	-0.14792800	-1.88012900
H	1.03223300	-1.63326500	-2.14437700
H	0.51654900	3.27874800	1.36433400
H	-0.40024000	4.04094000	0.04074200
H	-1.25131600	3.37103100	1.43987700
H	-4.12533900	-2.49388400	-1.79169600
H	-2.42622800	-2.15408500	-1.41028400
H	-3.31800900	-3.34292800	-0.46253700
H	1.29168700	-1.90685300	2.39031300
H	-0.44577800	-1.63543000	2.47339800
H	0.67258800	-0.46264100	3.21101200
H	3.10857800	1.70236500	-0.21635400
C	3.45539200	-0.42066300	-0.76141300
H	2.38588900	0.63460500	-2.35852200
C	4.77816500	-0.00658400	-1.37274000
H	5.54860200	0.07626100	-0.60193000
H	4.69846100	0.95640000	-1.88091600
H	5.10553400	-0.75201100	-2.10292300
C	3.52776800	-1.76445500	-0.06588600
H	4.31254600	-1.74055400	0.69454500
H	3.78366000	-2.54347500	-0.78922600
H	2.60557500	-2.06741400	0.42771400

### 8.6.3 Confórmeros de 6-*epi*-riolozatriona

Confórmero 1				Confórmero 2			
C	2.82942800	0.23273700	-0.29018000	C	2.83277200	0.22002400	-0.47115600
C	1.65459800	-0.39132800	-0.42200600	C	1.65985100	-0.34428700	-0.16376300
C	1.80408700	-1.87994100	-0.27028600	C	1.81969800	-1.79902400	0.18434200
C	3.33642400	-2.07505100	-0.43055400	C	3.26971400	-2.10546700	-0.28735100
C	3.96217000	-0.71244100	-0.02217200	C	3.98842100	-0.72897000	-0.37314600
C	2.64586300	1.68756600	-0.38998800	C	2.63982300	1.61982200	-0.86825700
C	1.19779000	1.90452000	-0.87071000	C	1.16648600	1.96915800	-0.58015700
C	0.47987400	0.53938400	-0.60611400	C	0.48112300	0.58713800	-0.32774200
C	-0.48540100	0.47360100	0.63221300	C	-0.61501600	0.46014400	0.78587000
C	-1.63414400	1.47709300	0.45450200	C	-1.71853400	1.48999100	0.50454100
C	-2.45029300	1.36588500	-0.82299900	C	-2.39833300	1.42590700	-0.85291100
C	-2.75875900	-0.05729100	-1.25984400	C	-2.66372300	0.02449800	-1.37607000
C	-2.06461100	-1.20533900	-0.56846200	C	-2.03784700	-1.15771400	-0.67642000
C	-1.14068200	-0.92727300	0.58014100	C	-1.22982300	-0.94270500	0.56747600
H	-0.09643900	0.24192300	-1.48785300	H	-0.00781300	0.30117700	-1.26734500
C	3.88863400	-3.26799000	0.33663000	C	3.99145300	-3.12630000	0.58157600
C	0.23537800	0.67336000	1.95687300	C	-0.09799500	0.57839500	2.21453200
O	-0.89757000	-1.77038600	1.40399500	O	-1.03098400	-1.84031000	1.34455300
O	-1.89218500	2.29770100	1.29659300	O	-2.03181500	2.32004300	1.31945500
O	3.44620300	2.56454800	-0.17831800	O	3.45285600	2.39188200	-1.31397600
H	1.46875000	-2.18881700	0.72753300	H	1.69800400	-1.94911700	1.26415500
H	1.22040900	-2.45965400	-0.99159400	H	1.07916700	-2.44576900	-0.29328200
H	3.53536300	-2.21127900	-1.49890300	H	3.19886100	-2.49434500	-1.30831600
H	4.22213500	-0.70089900	1.04321700	H	4.57392500	-0.52714100	0.53118100
H	4.87058700	-0.47935500	-0.58039000	H	4.67279200	-0.66347100	-1.22100100
H	-3.35745500	1.95718800	-0.68472400	H	-1.72952600	1.94528000	-1.54967100
H	-1.85985200	1.85308300	-1.60775600	H	-3.31406400	2.01636700	-0.78662900
H	4.96737900	-3.36323800	0.19197600	H	4.99994500	-3.31853600	0.20782200
H	3.70025600	-3.15436100	1.40787700	H	4.07641300	-2.76058200	1.60889900
H	3.42126800	-4.20003000	0.00998100	H	3.45347200	-4.07693000	0.60627900
H	0.80268100	1.60456400	1.95928000	H	0.09068300	1.61485000	2.47782800
H	-0.48494600	0.71380300	2.77375000	H	-0.84266600	0.18629600	2.90821200
H	0.91843200	-0.15516400	2.14158000	H	0.81478700	-0.00468000	2.34244600
H	-1.77685000	-2.07909300	-1.14380200	H	-1.70305300	-2.00731500	-1.26225000
C	-3.55402600	-0.99075800	-0.38517700	C	-3.53795500	-0.93966700	-0.61957000
H	-2.92052900	-0.17213200	-2.32629600	H	-2.72654200	-0.04442800	-2.45671700
C	-4.45298000	-1.98512300	-1.08834100	C	-4.37447000	-1.89602600	-1.44200000
H	-4.58334100	-2.88227600	-0.47770000	H	-4.56020700	-2.81850200	-0.88587000
H	-4.03657000	-2.28631600	-2.05209400	H	-3.87602000	-2.15676500	-2.37812900
H	-5.43951500	-1.54742900	-1.26459000	H	-5.34053300	-1.44431900	-1.68401100
C	-4.09420700	-0.53587100	0.95412700	C	-4.19233100	-0.53950500	0.68606600
H	-4.21549100	-1.39885000	1.61378200	H	-4.38406600	-1.43054700	1.28928500
H	-5.07374300	-0.06847600	0.82173000	H	-5.14966500	-0.04920800	0.48975500
H	-3.45428700	0.18049800	1.46980600	H	-3.59276900	0.13994900	1.29293300
H	1.30444800	1.96630000	-1.96184900	H	0.74724100	2.44662900	-1.47026600
C	0.62277600	3.23204200	-0.39193500	C	1.19111900	3.00003200	0.55630200
H	0.45669200	3.25755900	0.68396200	H	1.72465600	2.60978100	1.42537900
H	-0.31888900	3.47840000	-0.88577100	H	0.19406000	3.31016000	0.86680000
H	1.34640800	4.01245200	-0.63362700	H	1.73587600	3.87559200	0.19928100

**Confórmero 3**

C	2.87620900	0.83449700	-0.08362500
C	2.04588200	-0.15956200	-0.42374400
C	2.75100200	-1.48752700	-0.39915700
C	4.25013100	-1.08628200	-0.30259600
C	4.26123900	0.36781300	0.24428400
C	2.18500200	2.12579700	-0.13546800
C	0.69304900	1.81276500	-0.34432300
C	0.67381000	0.33037400	-0.82511000
C	-0.56625500	-0.53070700	-0.45576400
C	-0.67729100	-0.82781700	1.03962400
C	-2.06770700	-0.97240500	1.63479500
C	-3.05057900	0.10443600	1.20277000
C	-2.88475900	0.69899800	-0.17380600
C	-1.79150900	0.19074100	-1.06286500
H	0.65217100	0.34632400	-1.92163000
C	5.09063800	-2.06024000	0.51191600
C	-0.44986600	-1.91172500	-1.14402200
O	-1.82222900	0.38994000	-2.25239200
O	0.31097500	-1.04970800	1.69444600
O	2.64496900	3.23422000	0.00023600
H	2.42500000	-2.04920500	0.48527000
H	2.55198900	-2.10725000	-1.27737300
H	4.63928000	-1.04881900	-1.32518400
H	4.42159800	0.38329300	1.32857300
H	5.04360100	0.98054700	-0.20761400
H	-1.95223800	-0.98657300	2.71793600
H	-2.42498100	-1.96815700	1.34512100
H	6.13565900	-1.74327900	0.54843600
H	4.71863500	-2.11689100	1.53885200
H	5.05875300	-3.06591600	0.08524600
H	0.41685500	-2.44763800	-0.76175600
H	-1.33104500	-2.53026100	-0.96204400
H	-0.35254900	-1.76694900	-2.22087000
H	-3.07203000	1.75720400	-0.32421400
C	-4.09962400	-0.14361800	0.14851200
H	-3.32892200	0.80030800	1.98613000
C	-5.40209100	0.61402100	0.29613000
H	-5.85941200	0.78664600	-0.68142400
H	-5.24547000	1.58291600	0.77465900
H	-6.10676300	0.04238500	0.90650200
C	-4.26421600	-1.50317200	-0.48969800
H	-4.74091800	-1.39555500	-1.46702500
H	-4.89889100	-2.14217900	0.13110000
H	-3.31744900	-2.01741100	-0.65090100
H	0.28053100	2.48078700	-1.10417400
C	0.02743300	2.10913600	1.00776800
H	0.49257200	1.52862600	1.80702300
H	-1.04326400	1.90017700	1.00402900
H	0.16458700	3.16811300	1.23329100

**Confórmero 4**

C	2.81077900	0.07901200	-0.73419500
C	1.65305700	-0.47676700	-0.36054700
C	1.78258000	-1.96696900	-0.20242500
C	3.32582600	-2.16837500	-0.18017500
C	3.91717900	-0.91867100	-0.89645600
C	2.63291100	1.51629400	-0.97647100
C	1.22559000	1.87859800	-0.46449500
C	0.49969200	0.49991700	-0.34919100
C	-0.55226800	0.27124100	0.78841200
C	-1.58068200	1.41047500	0.73489200
C	-2.33258700	1.60938500	-0.57056400
C	-2.73585700	0.33173800	-1.28602800
C	-2.17028500	-0.98729900	-0.81912400
C	-1.28632700	-1.03143000	0.39020000
H	-0.03784200	0.35480100	-1.29519900
C	3.82318900	-2.23952500	1.26347900
C	0.03864800	0.12545900	2.18548700
O	-1.12552300	-2.05429700	1.00471700
O	-1.77933400	2.12645000	1.68313900
O	3.41769400	2.30257700	-1.44721600
H	1.29767100	-2.35961500	0.69367700
H	1.31036700	-2.46814000	-1.05704100
H	3.60400400	-3.08619400	-0.70151500
H	4.85897200	-0.59284900	-0.44860200
H	4.11007500	-1.10248100	-1.95809700
H	-1.66171300	2.18360100	-1.22034600
H	-3.19335800	2.24562100	-0.35611600
H	4.90902300	-2.35149000	1.29997800
H	3.56042700	-1.32161500	1.79973800
H	3.37430700	-3.08207000	1.79421600
H	0.36024800	1.08647900	2.57645600
H	-0.71470700	-0.27774800	2.86344600
H	0.88159600	-0.56680700	2.17533400
H	-1.93503800	-1.75499300	-1.54855900
C	-3.64329200	-0.67620700	-0.63295700
H	-2.86048100	0.44024700	-2.35801000
C	-4.59527500	-1.42900700	-1.53722600
H	-4.82336400	-2.41301200	-1.11955700
H	-4.16943500	-1.57170200	-2.53274900
H	-5.53420700	-0.87849300	-1.64335000
C	-4.19395400	-0.44315700	0.75826400
H	-4.42494800	-1.40278800	1.22767700
H	-5.11753900	0.13933000	0.70242100
H	-3.51042300	0.08641800	1.42300200
H	0.74024700	2.51680100	-1.20757700
C	1.43819700	2.69316800	0.81877200
H	2.01992900	2.12460500	1.54773200
H	0.50085600	3.00104200	1.28080600
H	2.00988700	3.58592200	0.55920000

**Confórmero 5**

C	2.19941400	0.60082800	-0.45906700
C	1.49765600	0.42374600	0.66470400
C	1.09998100	1.73050200	1.28981300
C	1.94578700	2.76423900	0.49196500
C	2.37256400	2.04493400	-0.82113600
C	2.57785000	-0.70591700	-1.03142300
C	2.21197500	-1.74998200	0.03817900
C	1.19473000	-1.02506300	0.97472000
C	-0.33742800	-1.28456400	0.80375700
C	-1.07341900	-0.49714100	1.90626400
C	-2.44899900	0.03526100	1.55113000
C	-2.35981700	0.93918100	0.32971200
C	-1.42648100	0.49469600	-0.77003800
C	-0.75952500	-0.84219600	-0.61146500
H	1.39954300	-1.25256600	2.02392300
C	1.22319600	4.08458500	0.25854200
C	-0.72519100	-2.75662500	1.04077400
O	-0.52280900	-1.53643400	-1.56738300
O	-0.59123900	-0.35452300	3.00125000
O	3.11611100	-0.93504200	-2.08496400
H	0.02645300	1.91459700	1.15479000
H	1.28417800	1.75879900	2.36667100
H	2.85624900	2.95349100	1.06863900
H	1.71297500	2.31169600	-1.65622300
H	3.38932400	2.29806600	-1.12745600
H	-2.84107500	0.56878100	2.41559100
H	-3.10827800	-0.81758100	1.36119500
H	1.84545100	4.78289800	-0.30607000
H	0.30331800	3.91803300	-0.31174900
H	0.95164000	4.56172500	1.20333600
H	-0.21812000	-3.13351300	1.93091700
H	-1.80342700	-2.85240400	1.20033000
H	-0.45967800	-3.36529200	0.18087000
H	-0.80812300	1.22387400	-1.28566300
C	-2.91452300	0.54065500	-1.01773700
H	-2.37358600	2.00103000	0.55003200
C	-3.41075800	1.66597500	-1.90005700
H	-3.31943700	1.39441000	-2.95469700
H	-2.83811900	2.58122100	-1.73398800
H	-4.46288800	1.87930100	-1.69191000
C	-3.67629200	-0.75361600	-1.19870900
H	-3.62288300	-1.06488900	-2.24469000
H	-4.72835100	-0.61733400	-0.93286600
H	-3.27480300	-1.57772800	-0.60677000
H	3.12718100	-1.79658200	0.64476000
C	1.98878700	-3.14229600	-0.53556800
H	1.14866700	-3.16448600	-1.22649800
H	1.83601000	-3.88010000	0.25437800
H	2.88422200	-3.42066700	-1.09422900

**Confórmero 6**

C	2.84385800	0.01826300	-0.46324400
C	1.62355900	-0.49767700	-0.63579100
C	1.67173200	-1.99207300	-0.80070000
C	3.11395500	-2.34129600	-0.32345900
C	3.92710700	-1.01641300	-0.43739000
C	2.77126400	1.48689700	-0.39861600
C	1.33940900	1.85905900	-0.82495000
C	0.52113000	0.53548100	-0.66687000
C	-0.39162400	0.43900400	0.61013800
C	-1.48642900	1.51500400	0.54856200
C	-2.36058400	1.53447600	-0.69538800
C	-2.75434100	0.16263300	-1.22028200
C	-2.10347700	-1.06529500	-0.63098300
C	-1.13361000	-0.91279100	0.50302300
H	-0.11630500	0.37725200	-1.54198700
C	3.08611700	-2.82913000	1.12431400
C	0.39374700	0.50727800	1.91084500
O	-0.91971700	-1.81513000	1.27052100
O	-1.66350500	2.29013400	1.45231000
O	3.64135000	2.27329800	-0.11815400
H	0.91588400	-2.53030700	-0.22533200
H	1.51649500	-2.24206900	-1.85762300
H	3.54902500	-3.11849900	-0.95471900
H	4.61788400	-0.88628200	0.39940000
H	4.52124500	-0.97001500	-1.35532600
H	-3.23198200	2.15314000	-0.47266600
H	-1.78212300	2.05442300	-1.46800000
H	4.09367700	-3.05514100	1.48042700
H	2.66187400	-2.05940100	1.77632200
H	2.47492400	-3.72831400	1.22760000
H	1.04110700	1.38420300	1.93821500
H	-0.28947800	0.56387400	2.75799900
H	1.00701000	-0.38532900	2.02166100
H	-1.87628000	-1.90926800	-1.27450800
C	-3.57307800	-0.78842700	-0.38647300
H	-2.95178900	0.13059900	-2.28643000
C	-4.54446300	-1.68337900	-1.12569800
H	-4.70617200	-2.61231200	-0.57279400
H	-4.17240500	-1.93909600	-2.12024800
H	-5.51021200	-1.18338200	-1.24058300
C	-4.04757900	-0.39912200	0.99759400
H	-4.18798000	-1.29703800	1.60469200
H	-5.00753100	0.11994300	0.93032700
H	-3.35744200	0.25221900	1.53463600
H	1.44087100	1.99742400	-1.91002300
C	0.86795600	3.18369300	-0.23963800
H	0.71807400	3.14301200	0.83797300
H	-0.06146900	3.52800200	-0.69749100
H	1.64017300	3.92884300	-0.43888100



**Confórmero 7**

C	-2.97145800	0.73198800	0.19270400
C	-2.06913500	-0.15846500	0.62418100
C	-2.70711200	-1.49549600	0.88157500
C	-4.08318300	-1.35917900	0.16627900
C	-4.35698300	0.17053000	0.09165500
C	-2.34387600	2.04011100	-0.02079000
C	-0.82743800	1.81175700	0.10191100
C	-0.71352000	0.46399100	0.87274100
C	0.55838900	-0.39472200	0.64549100
C	0.60454100	-1.07231700	-0.72403800
C	1.97546200	-1.37628400	-1.30274400
C	2.91919900	-0.18330500	-1.27567000
C	2.78630800	0.79168300	-0.13186200
C	1.76811800	0.52785100	0.93475400
H	-0.66749000	0.71323900	1.94001900
C	-3.99550300	-1.95399900	-1.23926200
C	0.58089400	-1.53205400	1.69638600
O	1.84315600	1.07283200	2.00797800
O	-0.40594600	-1.43115300	-1.27644500
O	-2.86567600	3.09384300	-0.29617900
H	-2.12964200	-2.32645700	0.47004900
H	-2.81488900	-1.66038700	1.96093400
H	-4.86621100	-1.87071100	0.72975600
H	-4.86723800	0.45249200	-0.83251100
H	-4.97550000	0.52104000	0.92397100
H	1.82489900	-1.73334200	-2.32058400
H	2.38797400	-2.21435100	-0.72918300
H	-4.93461900	-1.82011000	-1.78092900
H	-3.19460000	-1.46656500	-1.80316700
H	-3.77274000	-3.02296300	-1.20019300
H	-0.34493800	-2.10296300	1.65487200
H	1.40816700	-2.22604200	1.53434000
H	0.68949400	-1.09010300	2.68785300
H	2.92281400	1.85257900	-0.31368300
C	4.02797500	-0.06337700	-0.26093500
H	3.12146700	0.25328700	-2.24702400
C	5.28043000	0.66073100	-0.70718200
H	5.77264100	1.13758400	0.14420100
H	5.05111800	1.43297700	-1.44428700
H	5.98525100	-0.04296200	-1.15879700
C	4.29279200	-1.15930600	0.74538600
H	4.82724800	-0.74660200	1.60446600
H	4.91323900	-1.94404800	0.30287900
H	3.38197600	-1.61848600	1.12857600
H	-0.37301700	2.63319200	0.66021500
C	-0.29389100	1.80802000	-1.33820100
H	-0.80025100	1.04777000	-1.93669800
H	0.78096400	1.62470500	-1.38697300
H	-0.49044100	2.78411000	-1.78520900

**Confórmero 8**

C	2.85138100	0.80042200	-0.01650700
C	2.06690600	-0.15641100	-0.52462300
C	2.77220400	-1.48568700	-0.51025800
C	4.25231900	-1.08667500	-0.26963400
C	4.18474100	0.29206900	0.43817500
C	2.13657100	2.07226800	0.04844200
C	0.77307500	1.85833600	-0.63727500
C	0.70983500	0.33200300	-0.97658900
C	-0.52046700	-0.48013700	-0.46791900
C	-0.56083700	-0.64571600	1.05211300
C	-1.91693400	-0.89870600	1.69001400
C	-2.99205700	0.07971700	1.24457500
C	-2.91800300	0.60125500	-0.16936000
C	-1.79479200	0.16794300	-1.06349000
H	0.65198000	0.22197100	-2.06484600
C	5.05765700	-2.13661000	0.48276500
C	-0.43411900	-1.91357400	-1.05170800
O	-1.84117200	0.37376400	-2.25143700
O	0.45240400	-0.67057100	1.70502800
O	2.50209100	3.11825200	0.53001800
H	2.39321000	-2.07866100	0.33312900
H	2.63839000	-2.07605900	-1.42087500
H	4.70564300	-0.92295500	-1.25310900
H	4.18887000	0.17571400	1.52870000
H	5.01915700	0.94473800	0.17517300
H	-2.19831800	-1.92930200	1.44482000
H	-1.77538900	-0.85912500	2.76922700
H	6.09072700	-1.81100300	0.62595300
H	4.62141100	-2.31725300	1.46927700
H	5.07654400	-3.08618000	-0.05809500
H	0.47186500	-2.40891900	-0.70954600
H	-1.28017600	-2.53234800	-0.75149900
H	-0.42740100	-1.85004700	-2.14101400
H	-3.20739600	1.62678500	-0.36621500
C	-4.05657000	-0.30482800	0.24973500
H	-3.28788700	0.79895500	1.99960000
C	-5.39870900	0.38067500	0.40401600
H	-5.90095600	0.46601100	-0.56301100
H	-5.28707700	1.38415200	0.81963600
H	-6.04334600	-0.19544300	1.07371200
C	-4.16913300	-1.70988200	-0.29281200
H	-4.70579500	-1.69344400	-1.24451700
H	-4.72914600	-2.34296400	0.40166200
H	-3.20464900	-2.17815900	-0.47776600
H	0.83934000	2.40770100	-1.58253100
C	-0.33579600	2.50391200	0.18940200
H	-0.58412500	1.91977800	1.07952800
H	-1.23861300	2.66432300	-0.39851000
H	0.02292100	3.47794100	0.52786800

**Confórmero 9**

C	2.53391200	0.40140100	-0.22696300
C	1.50253600	0.22523300	0.60745200
C	1.31438700	1.43270200	1.48763900
C	2.12481300	2.52941300	0.74163000
C	3.17162700	1.75236900	-0.10824200
C	2.87587800	-0.86006800	-0.89419700
C	1.80169100	-1.88977100	-0.49703600
C	0.99796800	-1.19773000	0.65063200
C	-0.53980100	-1.44962300	0.74598500
C	-1.06648700	-0.55736900	1.90340200
C	-2.20469900	0.40105900	1.57859900
C	-1.91041500	1.19158000	0.31309900
C	-1.38508900	0.36575400	-0.84399900
C	-1.32762500	-1.10147600	-0.52060600
H	1.35801900	-1.59825700	1.60686800
C	1.20526800	3.35173000	-0.16116100
C	-0.78495400	-2.91022800	1.14312200
O	-1.94020300	-1.93379500	-1.14110700
O	-0.58999100	-0.65362500	3.00340600
O	3.80959500	-1.08639900	-1.62481700
H	0.27956000	1.72973000	1.66025300
H	1.73391900	1.20334800	2.47485000
H	2.61548500	3.19708000	1.45228300
H	3.35922600	2.22893800	-1.07350400
H	4.13632800	1.66830000	0.40211000
H	-2.37196400	1.04428500	2.44199600
H	-3.10165600	-0.21671800	1.44969500
H	1.76961200	4.10381300	-0.71666300
H	0.70760800	2.70092900	-0.88822000
H	0.43602500	3.86714600	0.42009100
H	-0.32027300	-3.10405300	2.11038400
H	-1.85349300	-3.12150100	1.21090200
H	-0.36444000	-3.58516200	0.39719800
H	-0.53934500	0.74215500	-1.41322400
C	-2.71363200	1.05787300	-0.96380100
H	-1.45157300	2.16030900	0.47112400
C	-2.72769500	2.29167800	-1.84350700
H	-2.88554000	2.01369300	-2.88866300
H	-1.78421900	2.83894900	-1.77549500
H	-3.53519500	2.96551000	-1.54456400
C	-4.00987100	0.27869600	-1.00843800
H	-4.21243400	-0.03851800	-2.03380700
H	-4.83373400	0.91695600	-0.67654500
H	-3.99900900	-0.62289900	-0.39890500
H	2.31393900	-2.77511800	-0.11158500
C	1.07276400	-2.28078300	-1.78719200
H	0.59734400	-1.41565200	-2.25741600
H	0.31016300	-3.04215700	-1.63091500
H	1.81699200	-2.66519500	-2.48659800

**Confórmero 10**

C	2.58627500	0.04718400	-0.40550100
C	1.48985500	0.18055300	0.35199300
C	1.30877600	1.61334200	0.78411200
C	2.70312400	2.23258000	0.49089900
C	3.31893500	1.33770400	-0.61827600
C	2.82265700	-1.36575900	-0.72470500
C	1.58860300	-2.14374200	-0.23458900
C	0.85482600	-1.14513700	0.71197200
C	-0.69098000	-1.25049100	0.85480700
C	-1.13584300	-0.21340400	1.92140900
C	-2.34782100	0.63250700	1.57033400
C	-2.07635700	1.35301600	0.25891400
C	-1.55013800	0.46004300	-0.84762900
C	-1.48190300	-0.98551900	-0.43287100
H	1.19563300	-1.34713600	1.73539300
C	2.65873100	3.71466400	0.14810600
C	-1.05015300	-2.63225600	1.42160300
O	-2.09016800	-1.85590300	-1.00259600
O	-0.54742800	-0.11659200	2.96600700
O	3.77377700	-1.85655600	-1.28254600
H	0.54368400	2.09913800	0.16763100
H	1.00451100	1.72130900	1.82765900
H	3.31028300	2.09067600	1.39094200
H	3.11200600	1.74225700	-1.61635600
H	4.40202700	1.23670100	-0.52840800
H	-2.55136000	1.32048700	2.38936000
H	-3.20364100	-0.04524900	1.47333900
H	3.66137000	4.10450600	-0.04216200
H	2.05735500	3.88265000	-0.75048400
H	2.22074000	4.29730400	0.96222200
H	-0.54130500	-2.77539900	2.37588200
H	-2.12748400	-2.72192000	1.57662100
H	-0.75375900	-3.42032400	0.73016800
H	-0.71401400	0.80245800	-1.45231500
C	-2.88554100	1.13386200	-1.00204600
H	-1.62458200	2.33201100	0.36945800
C	-2.91360800	2.30874300	-1.95880200
H	-3.08011900	1.96308200	-2.98216800
H	-1.97199500	2.86269400	-1.93637800
H	-3.72118600	2.99729000	-1.69613600
C	-4.17662500	0.34493100	-0.99126000
H	-4.37787700	-0.04307200	-1.99225500
H	-5.00415400	0.99909200	-0.70261000
H	-4.15953300	-0.51242800	-0.32113500
H	1.92365300	-3.02858400	0.31148100
C	0.85297300	-2.59243300	-1.50402000
H	0.52417100	-1.73203200	-2.09453600
H	-0.01967800	-3.20808900	-1.29397900
H	1.55111000	-3.16733500	-2.11485900

**Confórmero 11**

C	2.89660000	0.66884000	-0.09518100
C	2.15594300	-0.21824100	-0.76395200
C	2.96957000	-1.44612300	-1.09397900
C	4.13607800	-1.34744300	-0.07170800
C	4.27055400	0.17186200	0.23350800
C	2.14117100	1.91325400	0.11558400
C	0.89617000	1.80017700	-0.77943400
C	0.76889900	0.28112000	-1.10998700
C	-0.41213100	-0.47101700	-0.41961700
C	-0.46695800	-0.29468900	1.10055500
C	-1.80032100	-0.61350900	1.75585800
C	-2.90060100	0.27063500	1.18402200
C	-2.83979700	0.56542800	-0.29458800
C	-1.72499200	-0.02117100	-1.11295900
H	0.58135900	0.13949900	-2.17918900
C	3.77327600	-2.10967200	1.20321600
C	-0.25909900	-1.99068500	-0.67077500
O	-1.81487300	-0.10104100	-2.31263200
O	0.49459500	0.04055600	1.74384300
O	2.43351000	2.87130100	0.78657300
H	2.44271300	-2.39805600	-1.01944700
H	3.32775500	-1.36290100	-2.12790900
H	5.05965700	-1.75270100	-0.49032400
H	4.55188400	0.36212600	1.27218600
H	5.01979400	0.65621500	-0.40131400
H	-2.02373700	-1.67310700	1.59817900
H	-1.68957600	-0.45549400	2.82742900
H	4.56699800	-2.02628600	1.94888200
H	2.85711400	-1.69669800	1.63894700
H	3.61180400	-3.17092600	0.99703300
H	0.56566900	-2.38497200	-0.07690800
H	-1.15854700	-2.54621000	-0.40604100
H	-0.05903600	-2.16011500	-1.73031700
H	-3.11803700	1.55190900	-0.64798900
C	-3.97255400	-0.26444000	0.26794800
H	-3.19096000	1.09708700	1.82262900
C	-5.31578600	0.43306400	0.33163800
H	-5.82951400	0.36616600	-0.63081700
H	-5.20346700	1.48914800	0.58514200
H	-5.95013800	-0.03372700	1.09031500
C	-4.08412800	-1.73587800	-0.05506300
H	-4.62857400	-1.86431300	-0.99376500
H	-4.63504400	-2.25834700	0.73228800
H	-3.11944600	-2.22488500	-0.17739700
H	1.22663400	2.27225100	-1.71407200
C	-0.29318700	2.59689300	-0.26784600
H	-0.72682500	2.16998200	0.63834800
H	-1.07024200	2.68740800	-1.02943400
H	0.05367000	3.59998300	-0.01216800

**Confórmero 12**

C	-2.83265600	-0.22000600	-0.47169800
C	-1.65980400	0.34436400	-0.16408300
C	-1.81977000	1.79904200	0.18426600
C	-3.26985200	2.10543600	-0.28732700
C	-3.98839400	0.72884700	-0.37360800
C	-2.63957400	-1.61987800	-0.86851300
C	-1.16627300	-1.96909600	-0.58010000
C	-0.48105100	-0.58701000	-0.32783300
C	0.61496700	-0.45992800	0.78607100
C	1.71842700	-1.48978700	0.50471000
C	2.39819600	-1.42560500	-0.85279800
C	2.66334800	-0.02417900	-1.37609200
C	2.03788300	1.15798700	-0.67598600
C	1.22986700	0.94283900	0.56786900
H	0.00814300	-0.30116700	-1.26731500
C	-3.99173200	3.12588200	0.58194100
C	0.09756800	-0.57840400	2.21456400
O	1.03106300	1.84036900	1.34506500
O	2.03166300	-2.31993300	1.31952900
O	-3.45252400	-2.39210100	-1.31410500
H	-1.69799100	1.94897900	1.26407900
H	-1.07938000	2.44592300	-0.29338500
H	-3.19905300	2.49469400	-1.30814500
H	-4.57398500	0.52670800	0.53058900
H	-4.67265300	0.66358000	-1.22156800
H	1.72951900	-1.94523000	-1.54949600
H	3.31406300	-2.01583600	-0.78639700
H	-5.00023200	3.31813000	0.20821800
H	-4.07666800	2.75980000	1.60913000
H	-3.45385400	4.07656200	0.60697500
H	-0.08987600	-1.61504700	2.47800700
H	0.84143700	-0.18511900	2.90841500
H	-0.81605300	0.00348700	2.34199800
H	1.70320300	2.00767200	-1.26175400
C	3.53798800	0.93968700	-0.61971600
H	2.72560300	0.04488900	-2.45676100
C	4.37453300	1.89610300	-1.44199400
H	4.56054100	2.81839300	-0.88565200
H	3.87602300	2.15720000	-2.37799800
H	5.34046900	1.44426600	-1.68427900
C	4.19279500	0.53860100	0.68543800
H	4.38685100	1.42942000	1.28823500
H	5.14899100	0.04636800	0.48839800
H	3.59246300	-0.13944100	1.29310900
H	-0.74682600	-2.44667500	-1.47006400
C	-1.19108600	-2.99981300	0.55650100
H	-1.72485200	-2.60948600	1.42539000
H	-0.19407000	-3.30981500	0.86727400
H	-1.73570200	-3.87543800	0.19942200

**Confórmero 13**

C	2.81089200	0.07904500	-0.73413400
C	1.65314500	-0.47683400	-0.36068300
C	1.78279200	-1.96707500	-0.20279500
C	3.32605700	-2.16832000	-0.18018000
C	3.91740300	-0.91853100	-0.89631300
C	2.63306100	1.51635700	-0.97616300
C	1.22557900	1.87856500	-0.46457900
C	0.49974500	0.49982300	-0.34928400
C	-0.55227300	0.27114300	0.78828600
C	-1.58067500	1.41037900	0.73486400
C	-2.33240100	1.60950500	-0.57066100
C	-2.73604600	0.33187100	-1.28595700
C	-2.17044700	-0.98727800	-0.81921700
C	-1.28632900	-1.03153700	0.38994100
H	-0.03778600	0.35474200	-1.29530500
C	3.82310300	-2.23947000	1.26357900
C	0.03857100	0.12527900	2.18537800
O	-1.12529300	-2.05447500	1.00427500
O	-1.77954800	2.12602800	1.68330100
O	3.41797200	2.30275300	-1.44650900
H	1.29768200	-2.35996200	0.69307800
H	1.31091200	-2.46810100	-1.05767400
H	3.60444100	-3.08608800	-0.70149700
H	4.85914100	-0.59267100	-0.44837300
H	4.11039100	-1.10232200	-1.95794100
H	-3.19298900	2.24603300	-0.35632500
H	-1.66130500	2.18336400	-1.22051000
H	4.90893700	-2.35134900	1.30030400
H	3.56014700	-1.32161300	1.79982700
H	3.37418000	-3.08208400	1.79417500
H	0.36073700	1.08619600	2.57613700
H	-0.71501700	-0.27730600	2.86344500
H	0.88110700	-0.56747000	2.17534900
H	-1.93546600	-1.75490900	-1.54879600
C	-3.64341100	-0.67603900	-0.63283000
H	-2.86085400	0.44033500	-2.35792100
C	-4.59553700	-1.42877300	-1.53703600
H	-4.82351800	-2.41282800	-1.11942500
H	-4.16986900	-1.57134800	-2.53264900
H	-5.53450000	-0.87827200	-1.64293400
C	-4.19396200	-0.44328000	0.75850700
H	-4.42441200	-1.40306100	1.22787600
H	-5.11783500	0.13875600	0.70282600
H	-3.51059700	0.08660700	1.42315300
H	0.74033800	2.51654300	-1.20792200
C	1.43774000	2.69344900	0.81854400
H	2.01964900	2.12526600	1.54765700
H	0.50026400	3.00106100	1.28048300
H	2.00912800	3.58635400	0.55883100

**Confórmero 14**

C	-2.46957800	0.84900600	-0.29383200
C	-1.98274100	0.01533400	0.63415900
C	-2.85672200	-1.19966800	0.78058000
C	-4.16453100	-0.75838400	0.06995500
C	-3.72150100	0.33562000	-0.93922400
C	-1.58763300	2.01585200	-0.43875700
C	-0.63418900	1.96198800	0.76511600
C	-0.66436000	0.46718100	1.22520200
C	0.51302000	-0.50674100	0.81997900
C	0.43074800	-0.82771700	-0.67745900
C	1.21208200	0.01954600	-1.65818900
C	2.60597600	0.40978100	-1.21095000
C	2.90808700	0.44714500	0.27437900
C	1.84260300	0.12874400	1.26164400
H	-0.67316500	0.42009100	2.31752600
C	-4.93859900	-1.90743300	-0.56024800
C	0.34642700	-1.80183400	1.63759100
O	1.99220400	0.40088900	2.43047300
O	-0.28192900	-1.72086800	-1.06786200
O	-1.59020100	2.86829800	-1.29450500
H	-2.39848200	-2.04083400	0.24685200
H	-3.01429700	-1.50689000	1.81811800
H	-4.79392100	-0.26778500	0.82018000
H	-3.48923100	-0.10381900	-1.91670900
H	-4.48281600	1.10185600	-1.09591400
H	1.22625400	-0.51552500	-2.60952300
H	0.61566400	0.92975000	-1.81175900
H	-5.84655100	-1.54815200	-1.05053700
H	-4.32522600	-2.41280300	-1.31142000
H	-5.23139700	-2.64629100	0.18974300
H	-0.59236900	-2.29400400	1.39652400
H	1.15638000	-2.50313700	1.42792600
H	0.37745200	-1.55469500	2.69852900
H	3.56683100	1.22246600	0.64810300
C	3.57507500	-0.57766000	-0.64175500
H	3.04307600	1.21730000	-1.78958300
C	5.04426400	-0.30162300	-0.89512000
H	5.65685900	-0.71764700	-0.09103800
H	5.24487100	0.76963800	-0.95757500
H	5.35714600	-0.76341200	-1.83560600
C	3.27624100	-2.05964800	-0.55576100
H	3.77990500	-2.49202200	0.31308800
H	3.66373800	-2.55779000	-1.44858600
H	2.21904100	-2.30545700	-0.48756000
H	-1.20145200	2.48278900	1.54758500
C	0.64832000	2.75331800	0.55873800
H	1.25455300	2.37170000	-0.26119200
H	1.25640400	2.77489000	1.46391900
H	0.37221300	3.77638000	0.29776300

**Confórmero 15**

C	-2.58851900	0.78087100	-0.24786100
C	-2.01852000	0.05986700	0.72449200
C	-2.86551400	-1.12612700	1.09565700
C	-3.94868200	-1.16151500	-0.02717900
C	-3.89888500	0.23405200	-0.71897200
C	-1.77350200	1.96316600	-0.55498500
C	-0.73127300	2.05945900	0.56788900
C	-0.70529400	0.63434800	1.22231500
C	0.50618600	-0.35257700	0.96940500
C	0.36608500	-0.98001100	-0.41946200
C	1.00491600	-0.28054400	-1.59773000
C	2.40197300	0.24983000	-1.34424200
C	2.80108500	0.58792700	0.07870600
C	1.82494700	0.41073900	1.18712100
H	-0.71559500	0.74558600	2.31032500
C	-3.63459000	-2.26911000	-1.03210500
C	0.44919200	-1.44880600	2.04884300
O	2.03720700	0.89935100	2.27249900
O	-0.28069300	-1.98881800	-0.56985900
O	-1.88501300	2.73731400	-1.47535800
H	-2.30507600	-2.06217000	1.11514500
H	-3.29618800	-0.97680300	2.09273500
H	-4.93577100	-1.33809800	0.40454400
H	-3.95401100	0.15193400	-1.80757200
H	-4.71913200	0.88673000	-0.40524800
H	0.97870600	-0.96924100	-2.44399600
H	0.34231200	0.56187200	-1.84386800
H	-4.37182500	-2.28431100	-1.83834300
H	-2.64342300	-2.11343900	-1.46755700
H	-3.63473400	-3.24965900	-0.55004100
H	-0.49441900	-1.98567200	2.01019000
H	1.25301700	-2.17473200	1.91152800
H	0.57150600	-0.98348200	3.02643200
H	3.43231400	1.45261700	0.24784500
C	3.46854800	-0.56012400	-0.67612200
H	2.74804900	0.94994100	-2.09789700
C	4.89523200	-0.26414300	-1.09604400
H	5.58805400	-0.47978400	-0.27855300
H	5.01918800	0.78221500	-1.38158400
H	5.17253900	-0.88699000	-1.95093300
C	3.27737900	-2.00960600	-0.28207900
H	3.89513900	-2.24028200	0.59002500
H	3.60349700	-2.65407800	-1.10291100
H	2.25219200	-2.28509500	-0.04724900
H	-1.24399300	2.67641700	1.31780800
C	0.51160200	2.83149400	0.14853100
H	1.05926600	2.34023300	-0.65474000
H	1.18822200	3.00026300	0.98633300
H	0.18395000	3.79812500	-0.23775800

**8.7 Coordenadas X, Y, Z de los estados de transición del mecanismo de transformación de  
2*R* *iso*-jatrofatriona a riolozatriona calculados con PM6**

TS1				TS2			
O	-0.00565200	-0.41862700	-2.03648300	O	-1.50516800	1.76065000	-2.61156200
O	-2.20271500	-2.71770000	0.34967100	O	2.41798600	1.27785200	-0.13363100
O	1.22734700	1.44624600	2.21364400	O	-0.08755100	-1.38903400	2.68830900
C	2.75194800	-1.89191600	-0.61781500	C	-2.64994400	-0.73209500	-1.45699700
C	4.20801000	-1.36176100	-0.46349400	C	-3.19021400	-1.60231700	-0.28433800
C	4.08680400	0.19089500	-0.41526700	C	-2.67131400	-0.91897900	1.01122100
C	2.61479900	0.47323200	-0.61218200	C	-1.76453500	0.19409300	0.53932000
C	2.14948500	1.85305500	-0.73318100	C	-1.03710000	1.02594100	1.57321800
C	1.22802000	2.43641500	0.04627400	C	0.43743600	0.69192500	1.64155600
C	0.61088200	1.73900700	1.21758000	C	0.70272000	-0.63745800	2.11379200
C	-0.89206900	1.47335000	1.16374300	C	2.04721100	-1.27278800	1.67779400
C	-1.48124900	1.14922900	-0.14450600	C	1.69195100	-1.79859000	0.30656400
C	-2.92411800	0.81408700	-0.28579700	C	2.49288200	-1.56865200	-0.97163800
C	-2.70868800	-0.61802000	-0.65394400	C	1.20059400	-0.76391500	-0.70901000
C	-1.78221400	-1.49761300	-0.06981700	C	1.17908600	0.71728200	-0.45131900
C	-0.42035000	-1.22373900	0.15272600	C	0.36346900	1.58472800	-1.17352700
C	0.41757600	-0.75883600	-0.93097200	C	-0.96852800	1.25220000	-1.62704400
C	1.89135200	-0.65882700	-0.69454100	C	-1.73346000	0.27294700	-0.80366400
C	0.78383200	3.85219300	-0.12578600	C	1.28363300	1.80104200	2.19645600
C	-3.54469100	1.60332600	-1.45311100	C	2.39393200	-2.64038900	-2.04390800
C	-3.77846500	0.98911600	0.97665500	C	3.85648300	-0.92054700	-0.95242900
C	0.22051800	-1.75635700	1.39402800	C	0.82744400	2.97960200	-1.46631900
H	2.44299200	-2.53317000	0.23248400	H	-3.45463700	-0.20270100	-1.99852800
H	2.64116000	-2.50838400	-1.52745600	H	-2.11902200	-1.33943600	-2.20510500
H	2.61959500	2.40861000	-1.55430300	H	2.34260500	-2.07894700	2.36527200
H	-1.41615200	2.35577300	1.60911400	H	2.86583500	-0.53384100	1.66030600
H	-1.11390700	0.65476600	1.90578100	H	1.12515300	-2.73873300	0.37662200
H	-0.89222900	1.30176100	-1.06153800	H	0.31701000	-1.05423200	-1.30335200
H	-4.68003300	-1.38045200	0.24970600	H	1.33211500	2.64082800	1.48658700
H	-3.27181400	-0.98092200	-1.50403800	H	2.30908100	1.48609600	2.40852400
H	1.03478200	4.45633400	0.75974400	H	0.85038500	2.19009100	3.12767700
H	-0.29878000	3.92674900	-0.28979600	H	3.11151100	-3.44685000	-1.86311100
H	1.27027900	4.33750100	-0.98475300	H	1.39566800	-3.09154200	-2.08963200
H	-3.59128200	2.67485900	-1.23732900	H	2.59719700	-2.21161200	-3.03286300
H	-2.97697200	1.46556200	-2.38499900	H	4.08049300	-0.45751000	0.01908700
H	-4.56685000	1.26278400	-1.65584400	H	3.90582600	-0.11818900	-1.70448400
H	-4.81191200	0.67020700	0.79255300	H	4.65212400	-1.64127600	-1.16250600
H	-3.82077000	2.03176900	1.30547200	H	0.39233900	3.32957900	-2.41373900
H	-3.40603600	0.38048100	1.80978900	H	0.52015800	3.67402500	-0.67339600
H	0.76595300	-0.96257200	1.92749500	H	1.91987400	3.02921500	-1.55073500
H	0.94364400	-2.55811100	1.17277800	H	-3.48826100	-0.52413700	1.63491400
H	-0.51895400	-2.18471000	2.08327600	H	-2.09639700	-1.62032100	1.65302000
H	4.70231700	0.66573400	-1.19622100	C	-4.71472600	-1.72514600	-0.30925700
H	4.43083200	0.60134300	0.55176300	H	-5.18813600	-0.73813500	-0.24092100
C	4.89790700	-1.92399400	0.77581600	H	-5.05955700	-2.19318500	-1.23546200
H	4.35577000	-1.66307600	1.69358000	H	-5.07637200	-2.32466700	0.53112500
H	5.91753500	-1.53649000	0.87743800	H	-2.74688700	-2.62025100	-0.35495500
H	4.96474200	-3.01688900	0.73494500	H	2.88157200	0.73366900	0.55785500
H	4.79399400	-1.64981100	-1.36563800	O	-1.27445300	2.42435000	1.31098300
O	-4.89656000	-2.32946900	0.24847600	H	-1.52524700	0.91210000	2.57360700
H	-5.24987000	-2.52586300	-0.61822700	H	-0.73306200	2.71611200	0.53857100
H	-3.22314100	-2.83442800	0.31330800				



TS3				TS5			
O	-1.00378400	2.10804400	1.45424200	O	-3.43345700	2.65813300	-0.03978900
O	1.26988400	1.23144000	1.42846500	O	2.01887100	2.18952500	0.14408500
O	-0.29552900	-2.38323200	-1.14223400	O	1.38041400	-1.32846700	2.50787900
C	-3.48546000	1.11886400	-0.87549500	C	-4.10764000	-0.46053100	-0.25769900
C	-4.15494600	-0.27665400	-1.10350100	C	-3.70731300	-1.94144000	0.03620200
C	-3.27709200	-1.30920100	-0.32796300	C	-2.14626300	-1.98496500	0.05968200
C	-2.13640500	-0.50167800	0.22121600	C	-1.72579200	-0.53408900	0.05381900
C	-1.05184900	-1.07859400	1.07894400	C	-0.44778400	-0.07231100	0.06094900
C	0.44581000	-0.90691100	0.61087200	C	0.69096800	0.30034800	0.85780100
C	0.63432300	-1.81383300	-0.61914300	C	1.31795200	-1.05417200	1.33711600
C	2.05351000	-2.01817800	-1.11210700	C	1.81474300	-1.99600400	0.26421100
C	2.69719700	-0.69162900	-1.41736100	C	2.46507800	-1.32634700	-0.92060200
C	3.68992900	0.00299100	-0.47416800	C	3.75110100	-0.50144000	-0.78894800
C	2.24831900	0.53115400	-0.62824300	C	2.40232100	0.18838600	-1.07079300
C	1.12875300	0.49104400	0.37960900	C	1.75224200	1.02640500	-0.02196000
C	-0.07419000	1.79604000	-0.69140600	C	-1.25361400	2.04779300	-0.72769100
C	-1.13107200	1.69815700	0.22409100	C	-2.52218500	1.67724100	-0.34528900
C	-2.24800100	0.80033700	-0.09524600	C	-2.82414400	0.29589300	-0.15850700
C	1.21876400	-1.53976100	1.79042700	C	0.35706200	1.16120500	2.08102400
C	4.75706000	0.85156500	-1.14511500	C	4.73829100	-0.56453200	-1.93251100
C	4.20148400	-0.60897000	0.79895000	C	4.41936300	-0.30553600	0.54787300
C	0.71293800	3.07772600	-0.69161500	C	-0.74508200	3.43502200	-0.56741600
H	-4.14112400	1.80506200	-0.30821500	H	-4.85962600	-0.10534900	0.46658700
H	-3.25740400	1.61868300	-1.83165700	H	-4.55847800	-0.35306900	-1.26134600
H	2.03919300	-2.66329000	-2.01774100	H	2.51949500	-2.73039300	0.71613600
H	2.63668400	-2.59369500	-0.36210100	H	0.94042800	-2.59455500	-0.08329800
H	2.86322600	-0.55807800	-2.49641800	H	2.34483200	-1.92213700	-1.83710400
H	2.23037100	1.48760300	-1.19628300	H	2.23677900	0.61425100	-2.07151900
H	1.12440100	-0.88920700	2.67979100	H	-0.09534100	2.11494100	1.77311700
H	2.28806000	-1.67522800	1.59248700	H	1.25323700	1.39654200	2.66739400
H	0.80627400	-2.51476600	2.07563200	H	-0.34934500	0.65080400	2.74631800
H	5.62839100	0.24281700	-1.41798700	H	5.44432600	-1.39446200	-1.80036200
H	4.40955800	1.34197200	-2.06123100	H	4.25644900	-0.69996200	-2.90789700
H	5.10469900	1.64424800	-0.46846100	H	5.32701400	0.36160200	-1.99302800
H	3.66482000	-1.52992800	1.08070500	H	3.72859200	-0.33294100	1.39838800
H	4.09155100	0.10141900	1.63459400	H	4.92819600	0.66933100	0.58951500
H	5.26429400	-0.87319600	0.73076700	H	5.17726000	-1.07867300	0.73106500
H	1.61608900	3.00401400	-1.31719200	H	-1.38199400	4.03287700	0.10064600
H	0.10621100	3.90479000	-1.08343500	H	0.27579000	3.44558700	-0.14940200
H	1.04256400	3.35890800	0.32233900	H	-0.70637600	3.96134900	-1.53156100
H	-3.83957600	-1.81259000	0.47829800	H	-1.77556200	-2.51641900	0.95162900
H	-2.90170700	-2.10762400	-0.99787700	H	-1.73874900	-2.51069400	-0.82307600
C	-5.60806400	-0.29570400	-0.64282300	H	-4.24370600	2.27864500	0.38245100
H	-5.69878000	-0.06614100	0.42630100	H	-0.65904500	1.40849600	-1.39271800
H	-6.21159700	0.43915600	-1.18740900	C	-4.29061400	-2.91243300	-0.98427200
H	-6.06578900	-1.27848600	-0.80475800	H	-3.95768500	-2.68271600	-2.00378600
H	-4.11416600	-0.51862500	-2.18975600	H	-5.38651700	-2.87708300	-0.98592000
H	0.20897900	1.93814400	1.76852200	H	-3.99908000	-3.94644700	-0.76837700
O	-1.21249300	-0.61702800	2.41949100	H	-4.07965700	-2.21401100	1.05081600
H	-1.22125400	-2.18506200	1.20076900				
H	-1.27679700	0.37559000	2.46199000				
H	-0.18785300	1.32911800	-1.67090800				

## TS7

C	2.93406200	0.26399600	-0.44470400
C	1.72466800	-0.36721200	-0.31982200
C	1.87131900	-1.84434600	-0.24575000
C	3.41874200	-2.07962000	-0.35380200
C	4.09357700	-0.66394300	-0.44427200
C	2.63800500	1.66369800	-0.62631500
C	1.23036800	1.95579500	-0.34616300
C	0.53581600	0.58624600	-0.37580300
C	-0.53149800	0.27614000	0.70477600
C	-1.62822000	1.35806200	0.67458700
C	-2.39612400	1.51916500	-0.62329200
C	-2.76920100	0.21429000	-1.27972900
C	-2.13253300	-1.08532100	-0.79874200
C	-1.17561400	-1.08787900	0.34797100
H	0.05164100	0.48072300	-1.38335500
C	3.95079600	-2.88801100	0.82309600
C	0.06658700	0.19759800	2.10900600
O	-0.87772000	-2.10529600	0.92762800
O	-1.88918200	2.04097000	1.63662900
O	3.12600300	2.60056900	-1.35964500
H	1.44957600	-2.24883600	0.70014200
H	1.32718400	-2.36934000	-1.04914300
H	3.62575400	-2.63059500	-1.29845600
H	4.76893600	-0.47197300	0.40878700
H	4.70781400	-0.56670200	-1.35622300
H	-3.31301800	2.12173200	-0.43424700
H	-1.77797000	2.13626000	-1.31360800
H	5.03070300	-3.05611400	0.73924900
H	3.77213700	-2.38146400	1.77970500
H	3.47127000	-3.87241500	0.88316100
H	0.61999300	1.12178200	2.34747500
H	-0.71264900	0.08166600	2.87316800
H	0.75661100	-0.64937300	2.20805200
H	-1.85661400	-1.84779300	-1.54144400
C	-3.63832700	-0.83327200	-0.57567800
H	-2.91025300	0.33083600	-2.36401700
C	-4.59293300	-1.63197700	-1.43575800
H	-4.77333500	-2.62568100	-1.00254000
H	-4.22408200	-1.79013800	-2.45565100
H	-5.56531000	-1.12864800	-1.51692900
C	-4.16279200	-0.61520200	0.81961800
H	-4.30266500	-1.57404000	1.33997100
H	-5.13611000	-0.10612700	0.80199700
H	-3.50678400	-0.00880600	1.45565400
H	1.80107200	3.00508900	-1.40584800
C	0.83676200	3.02870900	0.60937500
H	0.70893700	2.63427000	1.63561200
H	-0.11526600	3.49719500	0.32861600
H	1.58885300	3.82707700	0.67137500

## TS8

C	2.90390600	0.43153600	-0.28689300
C	1.80682800	-0.32781300	-0.59958600
C	2.14021300	-1.76341200	-0.77584400
C	3.69124100	-1.81861100	-0.54311600
C	4.15932500	-0.35750000	-0.19919000
C	2.40920500	1.76748300	-0.04381800
C	1.02272600	1.90607100	-0.48691300
C	0.51099700	0.47071900	-0.62951300
C	-0.45057600	0.07266200	0.52840700
C	-1.42876900	1.24599500	0.72800200
C	-2.42495200	1.51818500	-0.38064400
C	-3.00761500	0.28760100	-1.02185100
C	-2.36087200	-1.07384700	-0.79235900
C	-1.16965000	-1.22164100	0.09278200
H	-0.00995800	0.32853900	-1.60501900
C	4.06082200	-2.80484900	0.55794100
C	0.27862200	-0.18028500	1.84895000
O	-0.73811800	-2.31131000	0.39444300
O	-1.40233000	1.94124600	1.71614600
O	2.68190700	2.70202900	0.79484400
H	1.57968400	-2.40295400	-0.05916900
H	1.86880400	-2.14126400	-1.77646400
H	4.17910000	-2.13101100	-1.49317200
H	4.61142000	-0.29239000	0.80730100
H	4.92663600	-0.00533700	-0.90928300
H	-3.24332500	2.16189800	0.01251700
H	-1.89753400	2.14658300	-1.14438700
H	5.14495800	-2.84514900	0.71426400
H	3.60228500	-2.53490800	1.51755500
H	3.72810500	-3.82105700	0.31497000
H	0.93179600	0.66403300	2.10887100
H	-0.42719800	-0.29845500	2.68107800
H	0.89185800	-1.09015300	1.80661500
H	-2.31233800	-1.78298000	-1.63265700
C	-3.75926900	-0.77403700	-0.21253000
H	-3.37981800	0.49624600	-2.03569000
C	-4.93002900	-1.45787700	-0.88407500
H	-5.05610600	-2.48185200	-0.50578700
H	-4.81914400	-1.53091700	-1.97207100
H	-5.86617100	-0.91856500	-0.68882300
C	-3.94474000	-0.64419400	1.27711500
H	-4.10414200	-1.62824300	1.74110300
H	-4.82077500	-0.02415900	1.51246300
H	-3.09251100	-0.19077200	1.79658700
C	0.58205800	2.91624200	-1.48731800
H	1.03706800	3.90102400	-1.31626100
H	0.84133700	2.61741200	-2.51336600
H	-0.51247200	3.04806300	-1.44896500
H	1.32994000	2.94608900	0.70705900

## **RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

**Elda Madai Melchor Martínez**

Candidato para el grado de

**Doctor en Ciencias con Orientación en Química Biomédica**

**Tesis: ESTUDIO DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE RIOLOZATRIONA POR  
MÉTODOS COMPUTACIONALES**

**Campo de Estudio:** Química

**Biografía:**

**Datos Personales:**

Nacida en Dr Arroyo Nuevo León, el 21 de Enero de 1985. Hija de Eudelia Martínez Salinas y Víctor Melchor Rodríguez.

**Educación:**

Químico Farmacéutico Biólogo por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León en 2006.

Maestro en Ciencias con Orientación en Química Biomédica por la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León en 2010.

**Experiencia Profesional:**

Prácticas Profesionales en Corporativo Farmacias Benavides, San Pedro Garza García Nuevo León (Febrero 2005-Noviembre 2005).

Químico Analista en Hospital y Clínica OCA, Monterrey Nuevo León (Febrero 2006-Abril 2007).

Asistente de Investigador, Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular en Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León (Septiembre 2009- Julio 2012).